
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LE CHOLÉRA ET LES VIBRIONS

PAR EL. METCHNIKOFF,

Chef de service à l'Institut Pasteur.

QUATRIÈME MÉMOIRE

SUR L'IMMUNITÉ ET LA RÉCEPTIVITÉ VIS-A-VIS DU CHOLÉRA INTestinal

AVEC LA PLANCHE XI

I

SUR L'IMMUNITÉ LOCALE.

Depuis qu'il est bien établi que le choléra asiatique est une maladie due à l'invasion du vibron de Koch, un problème nouveau s'est posé devant les savants, c'est celui d'expliquer, par la théorie du bacille-virgule, certains faits épidémiologiques qui ne s'accordent guère avec elle, et ont même servi d'arguments pour la combattre.

On a été depuis longtemps frappé par le fait que certaines localités sont si favorables au choléra que celui-ci s'y installe d'une façon endémique ; d'autres manifestent, au contraire, une immunité telle, que, malgré l'importation fréquente de germes cholériques, la maladie n'y prend jamais la forme épidémique.

D'un autre côté, on a remarqué que, même dans les pays d'endémie, il y a toujours un grand nombre d'individus possédant l'immunité, et ce fait se trouve en parfait accord avec cet autre résultat de l'expérience, que l'homme peut ingérer des quantités considérables de vibrions cholériques sans prendre le choléra. Cette observation n'a pas été faite seulement sur des

personnes qui ingéraient des vibrions cholériques dans des localités accessibles à la maladie, mais en dehors de la période épidémique. M. Wall, médecin de l'armée anglaise des Indes; a absorbé à quatre reprises des vibrions de Koch à Budapest, en 1892, lors de l'épidémie du choléra. Après cette ingestion, il eut quelquefois des selles molles, sans aucune indisposition ou malaise¹. La présence des vibrions cholériques dans les déjections des personnes saines n'est pas un fait rare. Enfin, des recherches nombreuses, bien connues, ont démontré le peu de sensibilité des animaux de toute sorte vis-à-vis du virus cholérique. Même les singes se sont montrés réfractaires.

La nature nous montre donc toute une série d'exemples d'immunité contre le choléra, et nous indique ainsi la voie dans laquelle il faut entrer pour étudier l'épidémiologie de cette maladie.

Commençons d'abord par l'immunité locale. Est-ce que certains endroits, indemnes vis-à-vis du choléra, le sont grâce à une composition particulière du milieu, qui empêche la pullulation du germe spécifique? A l'époque où on supposait que le vibrion de Koch, pour donner le choléra, devait passer à l'état de spore, on pouvait penser que certaines conditions extérieures étaient indispensables pour développer ce stade résistant. Mais, depuis qu'il a été établi que le microbe cholérique peut vivre longtemps en dehors de l'organisme, et passer dans les intestins à l'état végétatif de vibrion, l'hypothèse des spores est devenue caduque.

Après que M. Blachstein², au printemps de 1893, à une époque où il n'y avait de choléra ni à Paris ni dans la banlieue, eut fait la découverte du vibrion cholérique dans l'eau de la Seine, puisée à Paris (au Point-du-Jour), je priai M. Sanarelli³ de continuer ces recherches, interrompues par le départ de M. Blachstein. Ce dernier avait trouvé le vibrion dans des conditions telles qu'il ne pouvait subsister aucun doute sur l'importance de sa découverte. Des plaques de gélatine, ensemencées avec de l'eau de Seine conservée dans un bocal pour l'étude des

1. Cité par M. Drasche : Ueber den gegenwartigen Stand der bacillären Cholerafrage, p. 61.

2. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1893, p. 691.

3. *Ibid.*, p. 693.

microbes, ont donné plusieurs cultures liquéfiantes ressemblant à celles du vibron cholérique. On était si loin de supposer la présence de ce microbe que M. Blachstein pensa d'abord avoir affaire à un coccus; mais l'étude microscopique lui révéla la véritable nature des colonies. L'examen comparatif démontra qu'elles avaient la plus grande ressemblance avec celles du vibron cholérique de Courbevoie, et je pus facilement constater que mes cobayes, vaccinés contre la péritonite cholérique, l'étaient aussi contre le vibron du Point-du-Jour.

M. Sanarelli a pu confirmer cette découverte. Il a retrouvé des vibrions cholériques dans l'eau de Seine, près de Saint-Cloud, où il n'y avait pas d'épidémie, et même dans l'eau de Seine qui alimente Versailles, une des localités classiques pour leur immunité contre le choléra.

Pendant presque toutes les épidémies cholériques en France, il y a eu des cas à Versailles : toujours ils restèrent isolés, et ils n'amenèrent jamais une extension tant soit peu importante de la maladie. Lors des premières endémies (1832-1865), l'immunité naturelle de Versailles était déjà bien manifeste; elle a encore été confirmée dans ces vingt dernières années. En 1873, il n'y a eu que 3 morts; en 1884 pas un seul cas, et en 1892 trois décès cholériques, dont l'histoire a été déjà citée par M. Sanarelli¹. Et cependant Versailles est loin d'être irréprochable au point de vue hygiénique; une partie de son eau d'alimentation provenait (jusqu'à l'automne de 1893) de la Seine, et était prise en aval de Paris et de sa banlieue, souvent éprouvée par des épidémies cholériques. Cette eau, qui coulait dans un aqueduc de grande longueur, était souvent infestée par des mollusques qui mouraient dans la conduite, et rendaient l'eau parfois si dégoûtante que les consommateurs ne cessaient de s'en plaindre.

Eh bien! dans ces conditions, et tout près d'un foyer cholérique comme Paris, Versailles restait indemne. Cette immunité n'est pas due à l'impossibilité pour le vibron cholérique de vivre dans l'eau d'alimentation de Versailles, puisque ce vibron y a été retrouvé par M. Sanarelli. Mais est-ce bien le vibron du choléra? On sait que dans ces dernières années on a découvert un grand nombre de vibrions très semblables à celui de Koch,

1. Les données précises sur l'immunité de Versailles ont été fournies par MM. Proust, Netter et Thoinot, dans la *Revue d'hygiène*, 1893, p. 587.

et que la question du diagnostic spécifique de ce microbe est devenue des plus difficiles. Les règles établies par M. Koch en 1884 et même en 1893 ne sont plus applicables aujourd'hui. Les caractères qui paraissaient d'abord constants et stables sont au contraire des plus variables. Voilà pourquoi, même dans les meilleurs laboratoires bactériologiques, dans celui de M. Koch lui-même, on a dû plusieurs fois déclarer cholériques des vibrions qui auparavant n'étaient pas considérés comme tels, et inversement. L'histoire des vibrions de Massaouah et d'Ivanoff est connue de tout le monde.

Persuadé de l'instabilité des caractères spécifiques des bactéries en général et du vibron cholérique en particulier, je ne pouvais me fier aux propriétés si bien étudiées par M. Sanarelli. Par sa forme extérieure, l'aspect des cultures (liquéfaction typique de la gélatine, formation du voile sur la surface des milieux liquides, etc.), par sa réaction indol-nitreuse et sa propriété de produire la péritonite cholérique chez des animaux, le vibron de Versailles se présentait comme un vrai vibron cholérique de l'origine la plus authentique. La question principale n'était même pas de savoir si le vibron de Versailles appartenait ou non à l'espèce cholérique, mais bien s'il était cholérigène pour l'homme.

Grâce au bienveillant concours de plusieurs de mes amis, auxquels j'exprime toute ma gratitude, cette question a pu être résolue d'une façon définitive. J'ai vu que les cultures du vibron de la Seine, isolé par M. Sanarelli de l'eau d'une des fontaines de la place Hoche, à Versailles, agissent sur l'homme comme des cultures vibrioniennes provenant des selles cholériques. Seulement, édifié par mes expériences du printemps de 1893, je ne procédai qu'avec la plus grande prudence à cette recherche. Ainsi, je ne donnai jamais que de petites quantités de cultures. Deux personnes ont bu à jeun, mais sans alcalinisation préalable du suc gastrique, 1/88 de culture sur gélose, développée pendant 22 h. 1/2 à 36°, et diluée avec un peu de bouillon. Une goutte de cette émulsion a été versée dans de l'eau et répartie dans deux verres. L'effet de ce breuvage fut absolument nul. Trois autres personnes, ayant absorbé une quantité double de vibrions de Versailles dans les mêmes conditions, n'éprouvèrent également aucun trouble. Mais une sixième personne,

qui a avalé à jeun et sans neutralisation préalable de l'acidité gastrique, 1/44 de la même culture, a été prise de diarrhée. Celle-ci s'est déclarée de 36 à 40 heures après l'absorption des vibrions, elle s'est maintenue pendant deux jours. Les selles, très liquides, étaient tout le temps colorées et renfermaient une grande quantité de spirilles très minces, et une quantité notable de vibrions tout à fait identiques avec ceux de la culture absorbée. Des particules prises dans les déjections, et semées dans l'eau peptonisée additionnée de 2 0/0 de gélatine, ou commencées directement sur des plaques de gélatine à 10 0/0, ne tardèrent pas à donner des cultures du vibron de Versailles (Seine) de Sanarelli. Dans des tubes d'eau peptonisée, il se formait le voile caractéristique, composé d'une culture pure du vibron, tandis que sur des plaques de gélatine se développaient, à côté des vibrions, des colonies assez nombreuses du *Bacillus coli*.

Cette expérience, confirmant une de celles de M. Hasterlik, démontre que le microbe cholérique peut traverser à l'état de vibron l'estomac non neutralisé et se multiplier dans le tube intestinal. Seulement, dans l'expérience de Vienne, ce résultat a été obtenu avec une culture de 3 jours sur gélatine, absorbée presque en entier, tandis que, dans le cas que je viens de décrire, la quantité des vibrions était de beaucoup inférieure. Cette expérience prouve en même temps la propriété du vibron de Versailles de provoquer la diarrhée liquide chez l'homme.

Six autres personnes avaient absorbé des cultures de ce vibron après neutralisation préalable de l'acidité gastrique par une solution de bicarbonate de soude (1 gramme par personne). Tous ont eu une diarrhée bénigne, mais plus ou moins forte. M. L... absorbe à jeun, après une dose de 1 gramme de bicarbonate de soude, une goutte de culture du vibron de Versailles, développée pendant 20 heures à 36° dans un liquide composé de 100 parties d'eau, 2 de gélatine, 1 de peptone et 1 de sel marin. Après avoir été retirée de l'étuve, la culture était restée pendant six jours à la température de 15° environ. Le lendemain se déclara la diarrhée, qui persista pendant quatre jours. Les selles étaient très liquides, mais colorées en jaune, et renfermaient une grande quantité de vibrions de Versailles, comme d'habitude très minces. Il a été très facile d'obtenir de ces déjections des cultures pures des vibrions.

Dans cinq autres expériences de cette série, les vibrions de Versailles, cultivés sur gélose pendant 21 heures à 36°, et maintenus pendant 5 jours à 15°, furent absorbés en proportions plus grandes, jusqu'à 1/8 de la culture originelle. La personne qui avala cette quantité maxima n'eut qu'une diarrhée de courte durée. L'appétit et l'état général restèrent inaltérés. 3 autres personnes, qui absorbèrent 1/12 de culture, eurent une diarrhée liquide, mais colorée, d'une durée de 1 à 7 jours. Les déjections renfermaient des vibrions de Versailles, qui pouvaient être isolés en culture pure. La dernière personne de cette catégorie, M. A..., a eu la diarrhée riziforme, qui se déclara à peu près 50 heures après l'absorption de 1/12 de culture (précédée de 1 gramme de bicarbonate de soude) et dura 3 jours. Cette diarrhée cholériforme n'était accompagnée ni de vomissements, ni de crampes. Les déjections renfermaient des spirilles très minces et des vibrions typiques de Versailles.

La nature cholérigène de ce vibron a été définitivement démontrée dans le cas suivant : 2 gouttes d'une émulsion obtenue en délayant dans du bouillon une culture sur gélose, développée pendant 20 heures à 36° et maintenue pendant 10 jours à la température de 15-17°, ont provoqué une petite attaque de vrai choléra. Les vibrions ont été absorbés à jeun, immédiatement après l'ingestion d'un gramme de bicarbonate de soude. Le lendemain se déclara une diarrhée abondante, qui prit bientôt le caractère riziforme; quelques vomissements et quelques crampes, l'anurie et l'hypothermie (jusqu'à 36,5 dans le rectum) complétèrent le tableau classique. Les vomissements et les crampes ne durèrent que pendant quelques heures, tandis que la diarrhée persista pendant 3 jours, mais changea de caractère : les selles redevinrent colorées et plus consistantes. Il est à remarquer qu'une autre personne, qui a absorbé une goutte de la même émulsion et exactement dans les mêmes conditions, n'a pas eu le moindre trouble. La santé persista à être bonne et les déjections restèrent normales.

Le doute n'est donc pas possible. Le vibron de l'eau de Seine de Versailles est le vibron cholérique, et l'immunité de cette ville ne peut être expliquée par l'impossibilité pour le microbe spécifique de vivre dans cet endroit indemne.

Les eaux de Versailles sont en général très riches en

vibrions. M. Sanarelli a isolé un vibron de l'eau des étangs, qui liquéfie la gélatine, mais ne donne pas de réaction indol-nitreuse. J'ai commencé mes études sur l'eau dans l'automne de 1893, mais je n'ai pu retirer alors des eaux de Versailles que deux vibrions incurvés ne liquéfiant pas la gélatine. Ils étaient très nombreux dans les eaux de consommation, mais n'étaient pas du tout pathogènes pour l'homme. Quatre personnes qui ont absorbé, après neutralisation de l'acidité gastrique, jusqu'à $1/5$ de culture de ces vibrions sur gélose, n'ont éprouvé aucun effet.

Le résultat principal des expériences avec le vibron de Versailles (Seine) a pu être confirmé par les recherches sur le vibron de Saint-Cloud, isolé également de l'eau de la Seine par M. Sanarelli dans l'été de 1893. Ici, il s'agit d'une localité (Sèvres Saint-Cloud) qui n'a pas l'immunité constante de Versailles, mais qui a été épargnée en 1892, sans parler de l'année 1893, où le choléra asiatique, confirmé par l'examen bactériologique, n'a été constaté aux environs de Paris que dans un seul cas, survenu à Saint-Denis. Cette constatation a été faite par M. Netter¹, qui a vainement cherché des bacilles-virgules dans tous les autres cas suspects. J'ai déjà mentionné dans mon second mémoire que les malades de Paris, atteints d'affections cholériformes et entrés en 1893 à l'hôpital Necker, n'ont pas eu non plus le vrai choléra, comme j'ai pu m'en assurer moi-même par des recherches bactériologiques.

L'étude du vibron de Saint-Cloud se rapporte donc à un cas d'immunité locale temporaire. Ce microbe, dont la grande virulence pour les animaux a déjà été signalée par M. Sanarelli, est également virulent pour l'homme. Les expériences que j'ai faites ont été exécutées de la façon suivante. Le vibron était cultivé sur gélose dans l'étuve à 35-36° pendant un ou quelques jours, après quoi les cultures étaient maintenues pendant plusieurs jours au laboratoire à 15-17°. Avant de m'en servir, je préparais une émulsion des vibrions dans du bouillon, de sorte que chaque culture était répartie dans un volume de 45 à 50 gouttes. Une ou plusieurs gouttes du mélange étaient versées dans un verre d'eau et avalées à jeun. Les personnes qui ont bien voulu absorber ces cultures, comme celles qui ont bu les vibrions de Versailles, n'étaient pas les mêmes qui

1. Voir plus loin dans ce même numéro, p. 590.

s'étaient prêtées aux recherches du printemps de 1893 (décrites dans mon second mémoire).

Sur sept personnes qui ont (après neutralisation de l'acidité gastrique avec une solution d'un gramme de bicarbonate de soude) bu des vibrions de Saint-Cloud, deux seulement ont eu de la diarrhée, et cela après l'absorption de 3 et 4 gouttes de l'émulsion mentionnée. Les 5 autres, qui n'avaient absorbé que 1 à 2 gouttes, n'ont éprouvé aucun malaise.

Dans les deux cas où les vibrions ont manifesté leur action, la diarrhée s'est déclarée le lendemain du jour où les cultures furent absorbées. Chez la première personne, M. C., qui avait pris 4 gouttes d'une culture ensemencée 40 jours auparavant, développée à 35° pendant 3 jours, et maintenue le reste du temps à la température de la chambre, la diarrhée assez faible dura pendant 7 jours. Le nombre des déjections ne dépassait pas 3 par 24 heures. Les selles liquides, mais couleur d'ocre, ensemencées sur des plaques de gélatine, donnèrent des colonies nombreuses du vibron de Saint-Cloud à côté du *B. coli*. Cette diarrhée légère n'était compliquée d'aucun autre symptôme cholérique.

Une autre personne, M. P., absorba 3 gouttes de la même émulsion. Il se développa également une diarrhée légère qui dura pendant 5 jours. A l'acmé de cette indisposition, M. P. a éprouvé des nausées et a eu quelques vomissements. Mais tout le temps l'état général est resté satisfaisant. Les déjections étaient très liquides les premiers jours, mais colorées et exhalaient une odeur fécaloïde. Dans l'eau peptonisée et gélatinisée à 20/0, les selles, cultivées à 36°, donnèrent des voiles composés presque uniquement de vibrions de Saint-Cloud. Sur des plaques de gélatine, ces microbes se développaient également, mais en moindre quantité.

Cinq personnes, qui ont bu à jeun 1 à 2 gouttes des émulsions en bouillon du vibron de Saint-Cloud, mais sans neutralisation de l'acidité gastrique, n'ont éprouvé aucun trouble.

Quoique le vibron de Saint-Cloud se soit montré beaucoup moins offensif pour l'homme que celui de Versailles (Seine), il est néanmoins incontestable qu'il est aussi cholérigène¹. Des

1. Il est à noter que le vibron de Saint-Cloud, très pathogène pour les animaux des laboratoires en général, l'est aussi pour le pigeon (v. Sanarelli, l.

bacilles-virgules, isolés des selles cholériques, et ingérés en quantité beaucoup plus considérable, ont le plus souvent provoqué des symptômes tout aussi légers que ceux causés par le vibrion de Saint-Cloud.

Les faits, exposés dans ce chapitre, permettent de tirer plusieurs conclusions. Ils prouvent d'abord que le *vibrion cholérique* peut pulluler dans les eaux, y persister plusieurs mois après la cessation de l'épidémie, et conserver dans ce milieu la puissance de donner le choléra. Ce résultat confirme pleinement les données épidémiologiques d'après lesquelles l'eau sert souvent de véhicule au vibrion du choléra asiatique. D'un autre côté il démontre que la présence de ce microbe dans l'eau n'implique nullement l'apparition du choléra.

Ces conclusions peuvent jeter une lumière sur d'autres faits relevés à propos des vibrions des eaux. Dans le travail le plus complet sur la matière, celui de M. Dunbar à Hambourg¹, nous trouvons la description d'un grand nombre de vibrions semblables à celui du choléra (*Choleraähnliche Vibrionen*). M. Dunbar les a retrouvés dans les eaux et la vase de l'Elbe à Hambourg jusqu'en novembre et décembre 1893, c'est-à-dire après la cessation de l'épidémie. Il les a découverts même dans l'Elbe, près du port d'Auguste, à Dresde, dans une ville réputée pour son immunité contre le choléra. Mais, comme M. Dunbar n'a pas cherché l'effet de ces vibrions sur l'homme, et comme tous les caractères de ces microbes sont très variables, il hésite à les donner comme cholériques. Après les expériences avec les vibrions de Versailles (Seine) et Saint-Cloud, il devient très probable que les vibrions de M. Dunbar, ou au moins un certain nombre d'entre eux, sont de vrais microbes cholériques.

Dans tous les cas, on doit admettre comme certain que le vibrion du choléra-morbus peut pulluler dans les eaux des localités constamment ou temporairement indemnes contre cette maladie, et que par conséquent l'immunité locale ne peut être expliquée par l'impossibilité où serait le microbe spécifique de vivre dans ces localités².

c. p. 723). Ce fait confirme l'opinion des auteurs (MM. Gamaleïa, Sawtchenko, Salus, etc.) qui admettent que certains vibrions cholériques sont très virulents pour le pigeon.

1. *Arbeiten a. d. k. Gesundheitsamte*, V. IX, 1894, p. 379.

2. Cela ne veut nullement dire qu'il n'y ait pas sur le globe des points où le vibrion cholérique ne pourrait trouver des conditions absolument défavorables pour son existence.

II

LE POUVOIR PRÉVENTIF DU SANG DES HABITANTS DES LOCALITÉS
INDEMNES CONTRE LE CHOLÉRA.

Les données du précédent chapitre se trouvent en parfaite harmonie avec les résultats des expériences sur l'homme, rapportés dans mon second mémoire (ces *Annales*, 1893, p. 562). *La réceptivité de l'homme pour le choléra n'a aucun rapport constant avec la virulence du vibrion cholérique pour les animaux de laboratoire.* Le premier cas de choléra expérimental humain a été provoqué par un vibrion, isolé en 1884, et presque entièrement dépourvu de virulence pour les animaux en général et le cobaye en particulier. Le vibrion de Saint-Cloud, plus virulent pour les animaux que celui de Versailles, s'est montré moins actif sur l'homme. Dans le second cas de choléra provoqué chez l'homme, la maladie a été produite par une petite dose de culture âgée de 11 jours. Or on sait que, pour les animaux, ce sont les cultures fraîches de 1 à 2 jours qui sont virulentes. A partir du troisième jour, cette virulence s'abaisse progressivement. D'un autre côté, l'homme peut impunément avaler des quantités considérables de vibrions cholériques frais ou développés pendant un temps assez long. C'est en visant ces faits que j'ai exprimé, à la fin de mon deuxième mémoire, cette hypothèse que pour que le choléra se produise, il faut une sensibilité particulière de l'organisme humain, sensibilité dont les éléments nous sont inconnus.

Il ne s'agit pas ici d'une prédisposition à l'indigestion, mais bien de quelque chose de particulier. M'appuyant sur cette supposition, j'ai exposé (*l. c.*, p. 587) une sorte de programme de recherches ultérieures sur l'action des sucs digestifs, des éléments cellulaires de l'organisme, et des microbes du canal digestif, sur le vibrion cholérique et ses produits toxiques.

Mais, avant d'aborder ce sujet délicat et compliqué, j'ai dû résoudre le problème suivant. Est-ce que dans l'immunité locale, permanente ou temporaire, développée à la suite d'une épidémie cholérique, la vaccination produite inconsciemment par l'ingestion des vibrions si répandus dans les eaux, ne jouerait pas un rôle? Comme la virulence de ces microbes est très variable, il

pourrait peut-être se trouver parmi eux des vibrions vaccinant l'organisme contre l'effet pathogène du virus cholérique.

L'étude des eaux de consommation de Lyon et de Genève (dont je dois les échantillons à l'obligeance de MM. Kelsch et Massol), faite en automne et en hiver 1893, m'a démontré que les habitants de ces villes absorbent quantité de vibrions. Seulement les formes que j'ai pu isoler, dans cette saison avancée de l'année, appartenaient à des vibrions ne liquéfiant pas la gélatine, ne donnant pas la réaction indol-nitreuse (quoique producteurs de nitrites), et ne présentant qu'une faible virulence pour le cobaye. Ces vibrions étaient dépourvus de tout pouvoir pathogène pour l'homme. Ainsi, de six personnes qui ont absorbé jusqu'à 3 8 de culture du vibron de Lyon sur gélose, aucune n'a ressenti le moindre trouble. Quatre autres personnes, qui ont avalé jusqu'à 1 4 de culture fraîche du vibron de Genève sur gélose, n'ont pas eu non plus le moindre dérangement dans leurs fonctions intestinales ou autres.

Mais peut-être que parmi ces vibrions si inoffensifs, il s'en trouve quelques-uns capables de vacciner l'homme contre le microbe du choléra?

Comme ce ne sont pas les localités, mais bien leurs habitants qui sont indemnes contre le vibron cholérique, s'il intervient une influence vaccinnante quelconque dans cette immunité, elle pourrait peut-être se traduire par une augmentation du pouvoir préventif du sang des habitants contre la péritonite cholérique des cobayes. Des recherches antérieures dans cette direction n'étaient pas, à vrai dire, très encourageantes, puisqu'elles ont démontré le peu de concordance entre cette propriété préventive et l'immunité (voir notre premier mémoire). Mais, étant donnée la difficulté du problème, on devait tout de même essayer de l'aborder par ce côté. Après avoir absorbé un demi-litre de cultures cholériques stérilisées, M. Klemperer¹ a vu la propriété préventive de son sang s'accroître de 25 fois. Pourquoi l'absorption journalière de vaccins vivants ne produirait-elle pas quelque chose d'analogue, chez les habitants des localités indemnes?

Grâce au concours de plusieurs collègues, et notamment de M. Lyonnet, auxquels j'adresse ici mes remerciements, j'ai pu me

1. *Berl. klin. Wochenschr.*, 1892, p. N. 50.

procurer du sang de plusieurs personnes, habitant Versailles et Lyon, ces deux endroits classiques pour leur immunité contre le choléra. Le sang de quatre Versaillais, entrés à l'hôpital civil de Versailles, s'est montré très peu préventif, même à des doses élevées. Dans un cas seulement, 1 c. c. de sérum sanguin a préservé un cobaye de 420 grammes contre un tiers d'une culture de choléra de Courbevoie (dose mortelle), injectée dans le péritoine. Le sérum des trois autres Versaillais, injecté à la dose de 1,5 c. c. dans le péritoine, 21 heures avant l'épreuve avec $1/3$ de culture du vibron de Courbevoie, n'a pas sauvé des cobayes de 370 à 420 grammes.

Le sang des Lyonnais s'est montré plus efficace que celui des Versaillais. Sur dix personnes étudiées sous ce rapport, deux ont présenté le pouvoir préventif à la dose de 0,5 c. c. de sérum ; dans d'autres cas, la dose préservative était de 0,8 à 1 c. c. et au delà. Un vieillard de 68 ans, né à Lyon qui a toujours habité cette ville et qui boit régulièrement l'eau du Rhône, a un sang dont le sérum, injecté à la dose de 1 c. c., 1,5 c. c. et 4 c. c. dans le péritoine de trois cobayes de 393 à 422 grammes, ne les a pas empêchés de mourir de péritonite cholérique. Le cobaye qui a reçu la dose maxima de sérum (4 c. c.) est mort en 9 h. $1/2$, même avant le témoin. Un autre Lyonnais, âgé de 31 ans, qui est aussi né à Lyon et habite constamment cette ville, a fourni un sérum sanguin, dont des doses de 0,5 c. c. et 0,25 c. c. n'ont pas préservé les cobayes, tandis que les doses de 1 c. c., 1,5 c. c. et 2 c. c. ont été efficaces.

Je n'ai pas cru nécessaire de poursuivre plus loin ces recherches, parce que *les faits établis dans ces 11 cas n'ont nullement permis d'admettre l'existence d'une propriété préventive particulière au sang des habitants des localités indemnes contre le choléra*. Si les expériences avaient démontré le contraire, c'est-à-dire un pouvoir préventif extraordinaire du sang des habitants d'une localité, on aurait pu en conclure à un état de vaccination naturelle. Mais d'un autre côté, le fait que cette propriété s'est montrée là semblable à ce qu'elle est ailleurs ne permettait pas encore de nier la possibilité d'un *état vacciné* des habitants des localités indemnes.

III

TENTATIVES DE VACCINATION INTESTINALE.

Pour résoudre le problème abordé dans le précédent chapitre, il a fallu de nouveau recourir au moyen suprême, mais le seul efficace : l'essai sur l'homme. Plusieurs des personnes qui s'étaient assurées de l'innocuité relative de l'ingestion des vibrions des eaux, s'étaient bénévolement soumises à de nouvelles épreuves. Je leur adresse ici mes remerciements.

Je dois rappeler que quelques-unes des expériences de mon deuxième mémoire indiquaient la possibilité de la vaccination de l'homme par voie intestinale. J'ai dit que M. Latapie et moi-même nous n'avons éprouvé aucun effet à la suite de l'absorption de cultures fraîches du vibron de Hambourg, faite après deux ingestions préalables des mêmes vibrions plus ou moins âgés. Je faisais suivre l'exposé de ces faits de la réflexion suivante :

« Quoiqu'il soit difficile de tirer des conclusions certaines d'un petit nombre de faits, il paraît cependant résulter de cette expérience sur le vibron de Hambourg que l'ingestion préalable des cultures âgées de plusieurs jours n'occasionne non seulement aucun trouble intestinal (ou autre), mais vaccine contre l'action diarrhéique des cultures jeunes du même microbe. » (*Ann.*, 1893, p. 577.) Certains autres faits, recueillis par MM. Klemperer, Hasterlik, Sawtchenko et Zabolotny, semblaient corroborer cette conclusion. D'un autre côté, cette idée que, pendant les épidémies cholériques, la moindre attaque cholérique, ou même une action inaperçue du virus spécifique, pouvaient protéger contre le vrai choléra, était tellement plausible et répandue qu'on devait s'attendre *a priori* à sa confirmation entière. M. Ferran¹ admettait que « la disparition spontanée du choléra est due à ce que la masse de la population contaminable se trouve vaccinée », en conséquence de quoi il a proposé de vacciner les hommes en infectant « les eaux potables avec de grandes quantités de cultures atténuées de bacille-virgule ».

Examinons d'abord les faits qui se rapportent à cette question. J'ai fait en tout (sans parler de l'expérience citée plus

1. *Comptes rendus de la Soc. Biol.*, 1892, n° 30.

haut), sept expériences, dont deux ont été exécutées dans des conditions identiques. Après avoir absorbé, sans aucun effet, deux gouttes d'une émulsion en bouillon de vibrions de Saint-Cloud déjà âgés¹, deux personnes, MM. M... et J..., ont bu onze jours plus tard, trois gouttes d'une émulsion des vibrions de la même race, mais plus jeunes². Cette fois encore l'effet fut absolument nul. Et cependant une troisième personne, qui absorba trois gouttes d'une culture même plus ancienne du vibron de Saint-Cloud, fut prise d'une diarrhée qui dura plusieurs jours. Ceci indiquait donc une influence vaccinale de la première dose ingérée. Une semaine après la seconde dose, MM. M... et J... absorbèrent (toujours immédiatement après avoir ingéré 1 gr. de bicarbonate de soude dans de l'eau) deux gouttes d'une émulsion du vibron de Versailles (Seine), âgée de 11 jours³. Une goutte de la même culture occasionna une diarrhée légère, mais très liquide, quoique colorée, chez une troisième personne, qui absorbait les vibrions pour la première fois. Comme MM. M... et J... n'éprouvèrent aucun trouble, on devait certainement conclure à un effet vaccinal des plus manifestes. Dans cette expérience, exécutée en deux séries, les personnes vaccinées restaient indemnes, tandis que les témoins non vaccinés eurent la diarrhée.

Un troisième cas se prêtait à une conclusion analogue. Une personne, M. B..., après avoir bu 1, 12 d'une culture sur gélose du vibron de Versailles (Seine)⁴, a eu pendant trois jours une diarrhée liquide, mais colorée. L'état général était parfait. La diarrhée était cependant spécifique, et le vibron cholérique de

1. Le vibron de Saint-Cloud avait été semé 40 jours auparavant sur gélose et maintenu pendant 3 jours à 35°; ensuite la culture avait été transportée au laboratoire, dont la température variait entre 15 et 17°. Huit jours avant son emploi, la culture était mélangée avec du bouillon. Deux gouttes correspondaient à 1/25 de la culture totale. Les vibrions ont été versés dans de l'eau pure et bus immédiatement après l'absorption d'une solution de 1 gr. de bicarbonate de soude (par personne).

2. Une culture du vibron de Saint-Cloud était faite sur gélose 14 jours avant son usage. Maintenu pendant à 36°, elle était mélangée avec du bouillon et conservée au laboratoire dans un tube fermé. La prise des vibrions était également précédée de celle de 1 gr. de bicarbonate de soude.

3. Cette culture s'était développée pendant 20 heures à 36° dans l'eau peptonisée avec 20/0 de gélatine, et conservée à la température de la chambre pendant 40 jours.

4. La culture était développée pendant 21 heures à 36° et conservée pendant 5 jours au laboratoire à 15-17°. Immédiatement avant les vibrions, M. B. absorbait chaque fois 1 gr. de bicarb. de soude dans de l'eau.

Versailles en pouvait être isolé avec la plus grande facilité. Douze jours après la première ingestion, M. B. but 1/12 d'une culture⁴. Cette fois il n'éprouva aucun trouble et n'eut pas la moindre diarrhée.

Poursuivons l'exposé de nos essais de vaccination.

Un vieillard de 69 ans, M. C..., prit à jeun, après avoir neutralisé l'acidité gastrique avec une solution de 1 gramme de bicarbonate de soude, 2 gouttes d'une émulsion du vibron de Saint-Cloud, décrite dans la note 1 de la page précédente. L'effet fut nul sous tous les rapports. Une semaine après la première expérience, M. C... a absorbé (immédiatement après la prise d'un gramme de bicarbonate) quatre gouttes de la même culture, plus âgée de 7 jours. Malgré que celle-ci datât déjà de 40 jours et que M. C... eût subi une ingestion vaccinale, la diarrhée spécifique se déclara le lendemain, et dura toute une semaine. Elle était légère et n'a été compliquée par aucun trouble, mais sous ce rapport elle ne se distinguait en rien des autres cas où la diarrhée s'était développée sans tentatives préalables de vaccination. Les selles colorées donnaient le vibron de Saint-Cloud à côté du *B. coli*.

Dans une autre expérience, M. P... absorba (après avoir bu une solution d'un gramme de bicarbonate) 2 gouttes de l'émulsion du vibron de Saint-Cloud qu'avait bue M. C... Il ne s'ensuivit aucun effet. Cinq jours plus tard il avala 1 gramme de bicarbonate et 3 gouttes de la même émulsion. Le lendemain se déclara la diarrhée. Elle était légère, dura 6 jours et ne présentait aucune complication. Les selles étaient liquides, mais colorées, et donnaient des colonies caractéristiques sur des plaques de gélatine.

Dans deux autres expériences je combinai le vibron de Saint-Cloud, moins pathogène pour l'homme, avec le vibron de Versailles (Seine), plus actif. Je voulais éprouver l'effet vaccinal du premier contre le second. Dans ce but M. C... but deux gouttes d'une émulsion en bouillon du vibron de Saint-Cloud sur gélose, développée pendant 24 heures à 36°, et conservée pendant 9 jours

4. Le vibron de Versailles (Seine) avait été semé sur gélose deux jours avant son absorption. Cultivé pendant 22 h. 30 min. à 36°, la culture était portée au laboratoire et, la veille de l'expérience, diluée avec du bouillon et aspirée dans un tube.

au laboratoire. Cette fois l'absorption n'était pas précédée de celle du bicarbonate. M. C... ne ressentit aucun trouble, et se soumit à une seconde expérience une semaine après le début de la première. Il but d'abord une solution d'un gramme de bicarbonate, et aussitôt après une goutte d'une culture de Versailles (Seine) dans l'eau peptonisée avec 2 0 0 de gélatine. La même quantité de la même culture, et prise dans les mêmes conditions, a été le même jour avalée par M. L..., dans une expérience décrite page 533 de ce mémoire. Tandis que chez ce dernier il se développa le lendemain une diarrhée légère et colorée, M. C... ne ressentit d'abord aucun effet. Cinq jours après l'absorption des vibrions de Versailles, M. C... éprouva une lassitude générale, et le jour suivant se déclara chez lui une diarrhée abondante. Les selles devinrent incolores et riziformes, et renfermaient beaucoup de vibrions minces de Versailles qui poussaient abondamment dans les cultures. La température baissa jusqu'à 36°,5 dans le rectum. Cette diarrhée dura 3 jours, mais elle n'était accompagnée ni de vomissements, ni de crampes. L'état général s'améliora aussitôt et la température redevint normale.

Voilà donc un cas où une dose très petite de vibrions provoqua chez une personne, soumise d'abord à un traitement préventif, une diarrhée cholériforme, beaucoup plus violente que chez la personne qui servait de témoin. On voudrait peut-être attribuer l'inefficacité vaccinale de la première dose à ce fait qu'elle avait été prise sans alcalinisation préalable de l'acidité gastrique. Voici une expérience capable d'élucider cette supposition.

M. G... a bu, après l'absorption d'une solution d'un gramme de bicarbonate, 3 gouttes de l'émulsion du vibron de Saint-Cloud, décrite dans la note 1 de la page 542 et mentionnée page 543 de ce mémoire. Une semaine plus tard il prit une goutte d'une émulsion du même vibron, cultivée pendant 4 jours sur gélose à 36°. Cette fois, comme dans les deux qui vont suivre, M. G... absorba préalablement 1 gramme de bicarbonate de soude. Neuf jours après la seconde dose, M. G... en avala une troisième, composée de 3 gouttes d'une culture dans l'eau peptonisée additionnée de 2 0/0 de gélatine, décrite dans la note 3 de la page 542. Ces trois ingestions ne furent suivies d'aucun effet. Lorsque, juste une semaine après la troisième

dose, M. G... but 2 gouttes de la même suspension du vibron de Versailles (Seine) qui a été si bien supportée par MM. M... et J... (page 543 et note 1), il se déclara chez lui une diarrhée. Commencée 36 heures après la dernière absorption des vibrions, cette diarrhée a duré 4 jours, sans s'être compliquée de trouble général. Les déjections étaient en rapport avec la maladie, de consistance aqueuse et de couleur gris clair. Elles renfermaient, à côté de toutes sortes de bactéries, des vibrions minces en grand nombre. Il a été facile d'isoler de ces selles des cultures pures du vibron de Versailles (Seine). Voici donc un exemple où trois doses préalables, toujours précédées de bicarbonate, n'ont exercé aucune action vaccinante.

L'ensemble des faits exposés dans ce chapitre nous ôte donc tout droit d'accepter la vaccination naturelle par voie intestinale comme quelque chose de constant ou tant soit peu général. Le résultat de l'examen de la propriété préventive du sang des Lyonnais et des Versaillais se trouve ainsi pleinement corroboré.

Comme nos expériences démontrent que même *des vibrions cholériques, absorbés dans des conditions particulièrement favorables pour leur activité vaccinale, ne protègent pas l'organisme contre l'effet pathogène de ces microbes*, il a été inutile d'étendre les recherches au cas où l'organisme n'était préalablement soumis qu'à l'action des vibrions inoffensifs, comme ceux de Lyon (Rhône), de Genève ou de Versailles (autres que celui isolé de l'eau de la Seine). Et ceci d'autant plus que dans une expérience, relatée dans mon deuxième mémoire (*l. c.*, p. 376), le vibron de Gamaleïa, administré à forte dose, s'est montré incapable d'empêcher l'action diarrhéique du vibron de choléra de Hambourg.

IV

INFLUENCE DES MICROBES SUR LES VIBRIONS EN CULTURE.

A la suite des faits rapportés dans les deux chapitres précédents, l'hypothèse d'un état de vaccination inconsciente et permanente des personnes indemnes contre le choléra devait être définitivement écartée, ce qui permettait d'aborder le programme de recherches tracé à la fin de mon deuxième mémoire.

D'un autre côté, les observations sur l'effet des vibrions des

eaux chez l'homme renforçaient les déductions qui découlaient de mes expériences publiées en 1893. On voyait bien qu'à l'action de ces microbes s'ajoutait quelque facteur tout à fait particulier, qui imprimait un caractère bizarre à leur rôle dans les troubles intestinaux. La prédisposition individuelle entre en jeu dans toutes les infections, mais jamais on ne voit cet élément prédominer à ce point dans aucune maladie expérimentale. Dans mes recherches, relatées dans mon deuxième mémoire, le choléra était provoqué par un vibron des moins virulents, conservé au laboratoire pendant neuf années, tandis que des bacilles-virgules d'origine récente n'occasionnaient que des diarrhées insignifiantes. Dans les expériences sur les vibrions des eaux, l'indigestion la plus cholériforme a été produite par une faible dose du vibron de Versailles, vieille de 11 jours. L'effet de ces vibrions est tellement irrégulier, que toutes nos connaissances sur la virulence, vaccination, etc., dans les maladies infectieuses, ne permettent nullement de prévoir les phénomènes. Il est évident que le microbe cholérique subit, dans les organes digestifs, quelque influence qui rend son effet inconstant et imprévu.

Dans un travail récent, M. G. Klemperer¹ a abordé cette question. Il insiste avec raison sur l'impossibilité d'expliquer l'inefficacité si fréquente du vibron cholérique chez l'homme par l'action désinfectante du suc gastrique. Et ceci à la suite du fait qu'on trouve souvent ces microbes dans des selles de personnes bien portantes ou ne présentant qu'une diarrhée légère. Les vibrions ont donc pu traverser l'estomac, et se multiplier dans l'intestin ; mais ici ils se sont heurtés à quelque obstacle gênant leur action pathogène. D'après M. Klemperer, c'est la nucléine de l'épithélium intestinal qui exercerait cette action empêchante contre le vibron de Koch. Il admet « que la cause essentielle de l'immunité naturelle de l'homme et des animaux contre le choléra asiatique, est que le poison des bacilles-virgules végétant dans le canal intestinal est transformé pendant sa résorption en substance immunisante, grâce à l'action de la nucléine de l'épithélium. » Lorsque les cellules de l'épithélium ont été nécrosées, la nucléine, n'agissant que dans un milieu acide ou

1. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1894, p. 433.

neutre, ne remplit plus son rôle protecteur, à la suite de quoi le vibrion cholérique empoisonne l'organisme. Je ne me propose nullement de discuter ici cette hypothèse qui ne se prête pas encore, dans l'état actuel de la science, à une étude expérimentale rigoureuse. Je me contenterai seulement de dire que les faits, sur lesquels s'appuie M. Klemperer, ne prouvent pas du tout la destruction des toxines par la nucléine de la paroi intestinale. Ce qui frappe surtout dans les considérations de ce savant, c'est qu'il ignore complètement le rôle des microbes du canal digestif. Or, il est extrêmement probable que ces organismes doivent exercer une influence sur le vibrion cholérique, comme je l'avais déjà supposé dans mon deuxième mémoire. Lorsqu'on réfléchit à l'immunité de l'homme contre le choléra, et à l'influence du temps et des lieux, deux facteurs mis en relief par les travaux épidémiologiques de M. Pettenkofer sur la marche des épidémies cholériques, on est amené à se demander si l'intervention des microbes des organes digestifs ne présenterait pas ici une grande importance. Dans tous les cas, il est plus facile d'expliquer le caractère endémique du choléra dans certaines localités, et l'immunité temporaire ou permanente de certaines autres, par l'influence de la flore microbienne, qui peut revêtir également un caractère local et temporaire, que par le changement dans les propriétés essentielles des tissus, telles que la composition chimique des noyaux de l'épithélium.

Guidé par des considérations de cette nature, je me suis posé la question de l'influence des microbes sur le vibrion du choléra. Ce problème a déjà fait le sujet d'études circonstanciées de M. Kitasato en 1889 ¹. Voici le résultat général auquel est arrivé ce savant : on n'a pu retrouver aucune espèce bactérienne capable de détruire les bactéries cholériques sur des milieux nutritifs artificiels, à l'aide de leur croissance simultanée et concurrente. Il a été au contraire établi que toute une série de microbes différents sont empêchés dans leur développement et même tués en peu de jours par le vibrion cholérique. Comme exemple de ce genre d'action, je dois signaler ce phénomène que les bacilles charbonneux qui entrent en contact avec les bactéries cholériques dans les cultures, périssent sous leur influence en

1. *Zeitschr. f. Hyg.* 1889, F. VI, p. 1.

un temps relativement court. Et cependant M. Kitasato lui-même a fait des observations qui ne s'accordent pas complètement avec ce résumé général. Ainsi il a observé que « le bacille pyocyanique est plus fort que les bactéries cholériques ». J'ai pu à maintes reprises confirmer ce fait dans des cultures sur différents milieux.

Dans mes recherches, j'ai suivi un procédé différent de celui de M. Kitasato. Tandis que cet observateur employait des vibrios des plus vigoureux, qu'il cultivait en majeure partie sur les milieux les plus appropriés pour ce microbe, je me servais, comme point de départ, d'un vibron qui ne se développe que faiblement ou pas du tout sur la plupart des milieux. J'ai commencé mes études sur ce sujet avec le vibron des déjections normales, brièvement mentionné à la page 365 de mon deuxième mémoire.

Examinant d'une façon suivie la flore des déjections normales, j'ai constaté que dans les selles liquides, conservées pendant un temps plus ou moins long dans des bocaux stérilisés, se développaient des vibrios abondants. Pour la plupart c'étaient des bactéries ne liquéfiant que fort peu ou pas du tout la gélatine. Mais, dans un cas où il s'agissait des déjections liquides d'une personne bien portante, provoquées par un purgatif, j'ai trouvé sur plaque de gélatine des colonies en entonnoir, tout à fait semblables à celles du vibron cholérique. La découverte fut faite quatre mois après l'émission des selles, ce qui pouvait expliquer certaines particularités du vibron. De forme tout à fait typique, identique à celle du bacille-virgule original de Koch, le vibron en question ne poussait qu'à des températures inférieures à 30°, ne donnait pas la réaction indol-nitreuse, et, cela va sans dire, n'était pas pathogène pour les animaux. Abandonné pendant les vacances, ce vibron s'est affaibli encore plus, de sorte qu'il ne se développait que dans l'eau peptonisée. Il s'agissait de le remonter et de le faire pousser de nouveau sur des plaques de gélatine. C'est alors que se présenta une occasion favorable pour étudier le rôle des différents microbes.

Je semai une grande quantité de vibrios sur des plaques de gélatine nutritive à 10 0/0. Le lendemain je constatai l'absence de toute culture. Alors j'exposai des plaques à l'air libre, ou bien je semai sur leur surface de petites quantités

d'autres microbes. J'ai pu facilement constater que mon vibron subissait une grande influence de la part de ces organismes ajoutés. Tandis que certains d'entre eux faisaient pousser des colonies vibronniennes, d'autres n'exerçaient cette action que d'une façon très incomplète, ou bien n'agissaient pas du tout. Dans le cas d'action favorisante, les colonies du vibron se développaient dans le voisinage immédiat du microbe adjuvant, l'entourant comme d'une rangée de satellites. On voyait bien qu'au fur et à mesure que les colonies s'éloignaient du microbe favorisant, elles devenaient de plus en plus petites (fig. 4).

Cette série de recherches a permis d'établir un certain nombre de faits sur l'action favorisante ou gênante des microbes sur le vibron en question. J'ai pu constater que des microbes très variés permettent un développement abondant des vibrions sur des plaques sur lesquelles, sans leur concours, il n'y a pas du tout de culture. L'hypothèse que c'est en liquéfiant la gélatine que les microbes favorisaient le vibron ne poussant que dans des milieux liquides, devait être écartée par ce fait, que cette action favorable était souvent exercée par des microbes qui ne liquéfiaient pas du tout la gélatine. Une autre supposition, que l'influence favorisante consistait en une sécrétion alcaline des microbes, a pu être aussi facilement écartée à l'aide de plaques de gélatine à laquelle j'avais ajouté une solution de tournesol. Parmi les microbes favorisants se trouvaient même quelques-uns qui produisaient une réaction acide.

Il serait inutile d'énumérer ici tous les microbes étudiés sous ce rapport. Je me contenterai de signaler parmi les microbes favorisants plusieurs bacilles, donnant des cultures colorées ou incolores, et surtout des sarcines et des formes-levures, désignées souvent sous le nom de *Torula*. Lorsque je veux revivifier un vibron qui refuse de pousser, je le sème avec la torula blanche (*weisse Hefe* des auteurs allemands). L'avantage est que les torulas qui exercent l'influence la plus favorable sur les vibrions, ne liquéfient pas la gélatine, et permettent ainsi plus facilement d'isoler les colonies satellites.

Tandis qu'un grand nombre de microbes favorisent si nettement le développement des vibrions, d'autres exercent une influence contraire. Non seulement ils ne se présentent jamais entourés par des colonies vibronniennes, mais ils gênent même

leur développement autour des microbes favorisants. Cette influence peut être bien étudiée sur des plaques de gélatine dans lesquelles on a introduit des vibrions, et sur la surface desquelles on a semé par stries en forme de croix un microbe favorisant et un autre empêchant. On observe alors que les colonies vibronniennes se développent abondamment autour du microbe favorisant et loin du microbe empêchant. Plus on s'approche du point d'intersection des deux stries, plus l'influence du microbe empêchant devient manifeste. Autour de ce dernier, il ne se produit aucun développement de colonies vibronniennes.

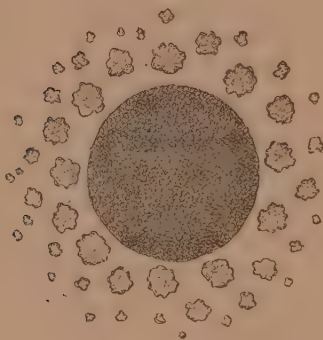


Fig. 1.



Fig. 2.

Parmi les microbes empêchants, il faut citer certains bacilles liquéfiant très fortement la gélatine, et par conséquent peu commodes pour l'étude au moyen des plaques. Dans cette catégorie rentre le bacille pyocyanique, dont l'action nuisible vis-à-vis du vibron cholérique a déjà été signalée par M. Kitasato. Comme espèce plus commode pour l'examen de la propriété empêchante, je dois citer un coccus, isolé de l'air et donnant des cultures blanches sur des milieux solides. Pendant les premiers jours il empêche complètement le développement du vibron, mais au bout d'un temps plus long il commence à céder. Le vibron pousse alors au voisinage du « coccus blanc », mais il ne donne que des colonies rares et pauvres en individus. Ce qui est plus remarquable encore, c'est que, dans ces conditions, le vibron revêt un aspect tout particulier. Au lieu de se présenter comme un petit vibron, il se développe sous forme de

doubles massues très grandes, et absolument semblables à ces formes d'involution, qu'on connaît surtout chez le bacille de la tuberculose aviaire (fig. 2). Cette ressemblance s'accroît encore, lorsque le vibron commence à produire des bourgeons latéraux, dont le nombre est cependant plus petit que chez le bacille de la tuberculose. La constance de cette modification indique une influence particulière du coccus blanc sur les fonctions du vibron. Il se produit ici quelque chose d'analogue au fait constaté par M. Schimmelbusch, d'une influence microbienne empêchant la production de la matière colorante par le bacille pyocyanique.

Pour s'assurer jusqu'à quel point la forme des vibrions est



Fig. 3.



Fig. 4.

influencée par le voisinage des microbes, il n'y a qu'à comparer l'aspect bizarre des vibrions qui végètent à côté du coccus blanc (fig. 2), avec les mêmes vibrions, développés sous l'action favorisante d'autres microbes. Au voisinage d'une sarcine jaune, isolée de l'air, ce vibron se présente sous forme d'une petite « virgule » recourbée, quelquefois presque ovale (fig. 3). Sous l'influence plus favorisante de la torula blanche, il devient beaucoup plus long et revêt dans ces conditions la forme typique (fig. 4).

Après avoir constaté les faits que je viens de signaler, j'ai dû m'assurer si les mêmes règles s'appliquent à des vibrions beaucoup plus vigoureux que le vibron chétif, isolé des déjections normales. Dans ce but j'ai choisi le vibron de Massaouah, comme le plus fort. Ensemencé sur des plaques préparées avec une gélatine ancienne, ou avec une gélatine acide, le vibron de Massaouah s'est comporté d'une façon tout à fait analogue. Dans ces conditions il a subi la même influence des mêmes microbes favorisants ou empêchants.

Comme on devait supposer que ces faits pourraient avoir une importance dans la question du choléra, j'ai voulu établir si les microbes qui habitent les organes digestifs de l'homme et des animaux se distinguent par leur influence sur les vibrions cholériques. Pensant que ce ne sont point les microbes qui se trouvent dans les déjections, mais bien ceux qui habitent les régions supérieures de l'appareil digestif, qui doivent jouer un rôle dans le choléra, je me suis mis d'abord à étudier la flore de l'estomac humain. Grâce au concours de M. le Dr Lion, auquel j'adresse ici tous mes remerciements, j'ai pu me procurer un certain nombre d'échantillons du suc gastrique de personnes à jeun ou en digestion du repas d'épreuve de M. Ewald.

J'ai pu isoler plusieurs microbes de l'estomac, qui exerçaient une influence favorisante sur les vibrions. Le premier rang est occupé par une torula que j'ai trouvée dans l'estomac d'une personne, atteinte d'hypo-pepsie (ou anachlorhydrie). Une sarcine isolée de l'estomac d'une autre personne, a manifesté aussi une influence favorable sur les vibrions. Parmi les bacilles de l'estomac, il s'est trouvé une espèce ne liquéfiant pas la gélatine, et donnant de l'acide lactique avec du sucre de lait, qui se distingue aussi par son action favorisante sur les vibrions. Des microbes, agissant en sens inverse, ont été isolés des intestins des animaux, notamment des cobayes. Plusieurs espèces de bacille et un gros coccus sont surtout remarquables sous ce rapport.

Les vibrions cholériques sont donc des êtres très sensibles à l'influence des microbes qui les entourent : leur croissance et même leurs formes extérieures subissent l'action des organismes avec lesquels ils se trouvent en relations de voisinage.

V

IMMUNITÉ DES ANIMAUX CONTRE LE CHOLÉRA.

Il était tout naturel, après avoir établi les faits qui précèdent, de chercher à les appliquer à l'étude de l'immunité des animaux contre le choléra intestinal.

Je n'ai pas besoin, — le fait étant suffisamment connu, — de

rappeler au lecteur les tentatives innombrables pour donner le choléra intestinal à des animaux de différentes espèces. Pour arriver à ce but, il a fallu recourir à des procédés spéciaux, comme la ligature du canal cholédoque (Nicati et Rietsch), ou l'injection de la teinture d'opium (Koch), ou de l'alcool (Doyen). Ces dernières méthodes étaient encore combinées avec l'administration préalable de l'alcali dans l'estomac, dans le but de neutraliser l'acidité du suc gastrique.

Tout récemment encore, M. Klemperer ¹ a injecté des quantités de vibrions cholériques directement dans l'intestin des lapins. Les vibrions restèrent vivants pendant un certain temps, mais les lapins n'éprouvaient aucun mal.

Parmi toutes les espèces étudiées (M. Koch s'est servi aux Indes d'un grand nombre de différents mammifères), seul le spermophile (*Spermophilus guttatus*) de la Russie méridionale s'est montré, d'après la découverte intéressante de M. Zabolotny ², sensible à l'injection du vibrion cholérique. Ce rongeur, qui prend l'infection mortelle avec des petites doses de vibrions, injectés dans la cavité péritonéale, meurt du choléra intestinal lorsqu'on lui donne à boire quelques gouttes de cultures vibroniennes. Dans ces conditions, la moitié des spermophiles meurt, l'autre résiste. Lorsque M. Zabolotny ajoutait de la soude à la nourriture contaminée avec les vibrions, la mortalité des spermophiles devenait plus grande; un certain nombre d'animaux résistait cependant. La maladie se manifestait par de la faiblesse, absence d'appétit, hypothermie prononcée, et souvent par la diarrhée. Plusieurs fois M. Zabolotny a observé des crampes cloniques des extrémités et la cyanose du nez et de la langue. A l'autopsie, le canal digestif a été trouvé hyperémié, distendu, et renfermant un contenu liquide, riche en vibrions. Ces microbes pénètrent souvent dans les organes abdominaux, le péritoine, et assez fréquemment envahissent le sang.

Le même rongeur s'est montré, d'après les expériences de M. Palmirsky ³, encore plus sensible vis-à-vis du vibrion de

1. *Deut. med. Woch*, 1894, p. 435.

2. *Centralb. für Bakteriologie*, 1894, p. 150.

3. *Archives des sciences biologiques*. Saint-Petersbourg, 1893, p. 497.

Gamaleïa (*V. Metchnikowii*). La nourriture, à laquelle on avait ajouté des cultures de ce microbe, transmettait la maladie intestinale. M. Palmirsky a même observé plusieurs cas de contamination de spermophiles, qui avaient mangé des cadavres de leurs congénères morts de la maladie vibronnienne. A la suite de ces recherches, il propose le vibron de Gamaleïa comme moyen pratique de destruction du spermophile, rongeur très nuisible à l'agriculture.

Comme le spermophile est un animal qui ne se reproduit jamais en captivité, et ne se trouve en quantité suffisante que pendant une certaine saison de l'année, et dans un nombre restreint de localités, il a fallu chercher un moyen pour obtenir le choléra intestinal dans des conditions plus accessibles. Il n'est pas besoin de fatiguer le lecteur par l'énumération de toutes mes tentatives infructueuses. Dès mes premières recherches dans cette direction, j'ai dû abandonner l'emploi de la sonde stomacale. Il est facile d'éviter les lésions grossières avec cet instrument, mais, lorsqu'il s'agit de vibrions très virulents, des érosions, par elles-mêmes insignifiantes, peuvent amener l'infection mortelle. La sonde a pu être définitivement supprimée, parce que le suc gastrique est loin d'être aussi funeste au vibron cholérique qu'on se le figure d'habitude. Déjà MM. Straus et Wurtz¹ ont démontré que ce microbe résiste pendant 2 heures à l'action du suc gastrique.

Dans mes expériences sur le cobaye, j'ai pu m'assurer à maintes reprises que les vibrions avalés avec la nourriture (luzerne et carottes), ou donnés tels quels, passent à travers l'estomac normal. Il se produit sûrement une destruction d'un certain nombre de ces microbes sous l'influence de l'acide, mais elle est insuffisante pour l'empêcher de pénétrer dans l'intestin. Lorsqu'on sacrifie des cobayes âgés de plusieurs jours, et auxquels on a donné à ingérer des vibrions cholériques, ceux-ci peuvent être facilement retrouvés (à l'aide de cultures) dans plusieurs parties du trajet intestinal, jusqu'à 5 jours et quelquefois même plus longtemps après l'absorption des vibrions. Il arrive que des cobayes, nourris avec ces microbes, meurent au bout de quelque temps. La constatation des vibrions dans les

1. *Archives de médecine expérimentale*, 1889, p. 382.

intestins pourrait suggérer l'idée d'une infection cholérique : on se tromperait. Il s'agit ici d'une mort occasionnée par une autre cause quelconque, ce qui n'empêche nullement les vibrions de persister dans le canal intestinal. De cette façon, il a pu être démontré que, malgré le passage du virus cholérique à travers l'estomac acide et sa conservation dans l'intestin, les cobayes, même jeunes, résistent à l'infection. Le résultat était le même, lorsque j'ai remplacé le vibron cholérique par le vibron de Gamaleïa, plus virulent encore pour le cobaye. Très sensibles à l'inoculation sous-cutanée de ce microbe, les cobayes supportaient sans aucun trouble l'ingestion de fortes doses de cultures sur gélose du même vibron.

M. Karlinsky, lors de son séjour à Paris au printemps de l'année courante, a été témoin de plusieurs de mes tentatives infructueuses pour provoquer le choléra intestinal chez les animaux. Il me conseilla alors de m'adresser à des jeunes chats. Ce conseil fut suivi aussitôt. Quatre chats, se nourrissant de lait, ont avalé des quantités considérables de culture du vibron de Massaouah des plus virulents. Un petit chat de dix jours en a reçu deux grandes cultures entières sur gélose sans éprouver le moindre inconvénient. Deux autres chats, âgés de 12 et de 17 jours, ont avalé la même quantité de vibrions, mais avec le même résultat négatif. Un chat âgé de 1 mois reçut dans son estomac, après alcalinisation préalable de l'acidité gastrique avec du carbonate de soude, une culture entière du vibron de Massaouah. L'effet fut encore nul.

Deux petits chiens ont avalé, le lendemain de leur naissance, une culture de Massaouah sur gélose, développée à 36° pendant 24 heures. Le jour suivant ils avalèrent encore chacun la même dose. Les vibrions n'ont pas occasionné le moindre trouble dans la santé de ces petits chiens, dont l'un a été sacrifié deux semaines après le début de l'expérience. Des cultures de son contenu intestinal dans de l'eau peptonisée ont démontré que le rectum renfermait encore des vibrions de Massaouah. Le passage à travers l'estomac et la conservation du microbe cholérique dans l'intestin n'ont pas empêché les petits chiens de rester parfaitement indemnes.

Non seulement les petits carnassiers, mais aussi certains rongeurs se sont montrés réfractaires au choléra intestinal dès leur

âge le plus tendre. Des petites souris de huit jours ont avalé des quantités considérables de vibrions de Massaouah, cultivés sur gélose, sans le moindre inconvénient. Des petites gerbilles, âgées de cinq jours, ont absorbé 17 d'une culture sur gélose du vibron de Massaouah, ce qui ne les a pas empêché de rester bien portantes et de se développer de façon normale.

Comme exemples d'immunité, je puis citer encore des lapins, âgés de plusieurs semaines, tétant encore, mais déjà capables de prendre de la nourriture végétale. Un lapin de 370 grammes avala une culture entière de Massaouah, préparée avec du sang d'un lapin mort de la péritonite produite par le même vibron. La culture était faite sur gélose dans un grand tube de verre, et s'était développée pendant 24 heures à 36°. Le lapin n'en éprouva pas le moindre trouble. Deux autres jeunes lapins de 243 et 232 grammes, choisis avec intention dans une portée où il y avait eu plusieurs cas de mort par maladie spontanée, ont été nourris avec deux cultures entières de Massaouah sur gélose. Les lapins, faibles dès le début, moururent quatre et cinq jours après l'ingestion des vibrions. L'autopsie ne révéla aucune trace de cholera, et même les cultures ne démontrèrent pas la présence du vibron absorbé. L'immunité s'est donc conservée malgré l'état maladif grave des lapins.

L'état réfractaire des animaux qui avaient mangé des cultures de vibrions de Massaouah et de Gamaleta s'est maintenu, même après l'injection de doses mortelles d'une infusion de jejunum dans le péritoine et sous la peau des cobayes. Malgré l'influence de ce poison sur le canal intestinal, les vibrions, qui s'étaient bien maintenus dans cet organe, n'ont cependant pas été capables de produire une affection cholériforme.

Les vibrions, malgré leur pouvoir de pénétrer à travers l'estomac acide et de se conserver pendant un temps plus ou moins long dans les intestins de beaucoup de mammifères, ne provoquent pas le cholera intestinal. L'immunité même des espèces très sensibles à l'inoculation péritonéale ou sous-cutanée des vibrions est très grande vis-à-vis du virus, absorbé par la voie digestive.

VI

RÉCEPTIVITÉ DES JEUNES LAPINS POUR LE CHOLÉRA INTESTINAL

Comme il y avait lieu de supposer qu'une large part dans l'immunité des animaux contre le choléra intestinal est due à l'influence des microbes du canal digestif, il était naturel de chercher à supprimer ou au moins à diminuer cette influence. L'idée de stériliser la nourriture et de produire une aseptie intestinale par voie artificielle, n'a donné que des résultats peu encourageants. Il a fallu se contenter d'expérimenter dans les conditions de la nature. Parmi les espèces les plus sensibles au virus cholérique, introduit dans l'organisme par une voie autre que les voies digestives, le cobaye et le lapin occupent le premier rang. Mais le premier, à peine né, commence déjà à prendre de la nourriture végétale et à contaminer son tube digestif par une foule de différents microbes. La flore intestinale des jeunes cobayes est déjà extrêmement riche. Le lapin au contraire ne se nourrit qu'avec le lait de la mère pendant plusieurs semaines. Quoique, dès les premières heures après la naissance, les microbes commencent à se développer dans son canal digestif, la flore intestinale des jeunes lapins reste néanmoins assez pauvre et peu variée. En choisissant ces animaux pour expérimenter sur le choléra, l'intervention des microbes étrangers est réduite à son minimum.

La technique est des plus simples. Avec un instrument non tranchant (je me servais de l'extrémité d'un tube en verre fondu à la lampe et recourbé en arc) on racle la culture développée sur la surface de la gélose, et on l'introduit dans la bouche des jeunes lapins. Ceux-ci en avalent aussitôt la plus grande quantité. Les cultures employées étaient âgées de 24 heures ou à peu près.

Des lapins de 1 à 4 jours seulement, auxquels on a donné à avaler les quantités de culture du vibrion de Massaouah, développées sur un et même sur deux tubes de gélose, prennent le choléra intestinal mortel dans la moitié des cas. La maladie se développe lentement, et la mort survient au bout de 6 jours et même plus tard. Il se développe le plus souvent une diarrhée qui amène la mort, ou guérit quelquefois. Les jeunes de la même mère, qui sont en apparence dans les mêmes conditions, présentent à ce sujet de grandes différences. Ainsi, dans une expérience

sur deux petits lapins de quatre jours qui avaient reçu deux cultures de Massaouah, l'un a eu une diarrhée très forte, 5 jours après la première absorption du virus. Le lendemain il a été trouvé mort avec tous les signes du choléra intestinal. Chez le second lapin, la diarrhée se déclara 6 jours après le début de l'expérience. Les déjections renfermaient des quantités considérables de vibrions de Massaouah pendant 8 jours. Après ce laps de temps, la diarrhée changea de caractère, devint colorée, fétide et ne donna plus de vibrions dans les cultures. L'état général du jeune lapin est resté tout le temps très bon, la température était normale, et la guérison était complète vers le vingtième jour après le début de l'expérience. Trois semaines après la disparition de la diarrhée, il mourut brusquement. Mais l'autopsie a démontré que la mort était due à une coccidiose aiguë, et n'avait aucune relation avec l'absorption des vibrions. Dans aucune partie du canal digestif (sans parler d'autres organes) ces microbes ne purent être retrouvés ni à l'aide de cultures, ni sur des préparations.

Ces différences individuelles, qui ont été observées dans d'autres cas, et la transformation de la diarrhée cholérique en diarrhée fétide, faisaient présumer l'intervention d'autres microbes.

Désirant me faire une idée de ce qui se passe dans l'organisme du lapin après qu'il a absorbé une culture entière de Massaouah, j'en ai sacrifié un (âgé de 3 jours) qui, 72 heures après le début de l'expérience, se portait très bien. L'autopsie démontra l'état absolument normal de tous les organes et du canal digestif en particulier. On y trouvait du lait en état de digestion comme chez des lapins qui n'ont été soumis à aucune expérience. L'examen microscopique ne révéla de vibrions ni dans l'estomac, ni dans l'intestin grêle, mais bien dans le cœcum, où ces microbes étaient très nombreux. Il y avait cependant des vibrions vivants dans l'intestin grêle, car les cultures, faites avec le contenu de plusieurs parties de cet organe, étaient composées de vibrions de Massaouah bien typiques.

Les vibrions ingérés passent donc à travers l'estomac (dont la réaction est toujours acide), et s'établissent dans l'intestin grêle et dans le cœcum, où, pour ainsi dire, ils attendent quelque condition favorable pour manifester leur action pathogène.

Après avoir constaté le rôle favorisant de certains microbes

isolés du contenu stomacal de l'homme, sur les cultures des vibrions, il était tout naturel de s'adresser à eux pour faciliter l'action cholérigène.

Le vibron de Massaouah, ingéré en commun avec la torula et la sarcine de l'estomac humain, a provoqué le choléra mortel chez les quatre lapins, âgés de 4 et de 8 jours, soumis à l'expérience. Mais la mort ne survenait que tardivement, 7 à 9 jours après l'ingestion des microbes.

La combinaison des vibrions avec trois microbes favorisants, isolés de l'estomac de l'homme, a donné de meilleurs résultats, de sorte que, dans la grande majorité de mes expériences, je m'en suis tenu à elle. Je donne d'abord à avaler une culture de la torula, de la sarcine et d'un bacille¹ développés pendant vingt-quatre heures (ou à peu près) sur gélose à 36°. Immédiatement après je fais ingérer une culture du vibron cholérique, préparée exactement dans les mêmes conditions. Les jeunes lapins résistent rarement à cette épreuve. Sur vingt-deux lapins qui ont reçu la combinaison des quatre microbes, et qui n'ont été soumis à aucune espèce de traitement, deux seulement ont survécu. Souvent la mort survenait déjà dans l'espace de 36 à 48 heures après le début de l'expérience. Dans les cas où la survie était plus longue, j'administras une seconde dose de microbes favorisants; plus rarement je donnais encore une et même deux fois des cultures de vibrions. Quelquefois la mort survenait plus tard, en 60-120 heures. Rarement cette période dépassait 200 heures, une fois cependant elle a atteint 288 heures.

Le choléra se présente le plus souvent sous forme d'une diarrhée liquide. Sur 53 lapins, cette forme a été observée 42 fois. Dans les autres 13 lapins, elle a revêtu la forme de choléra sec. Dans ce cas la mort survient brusquement, et la maladie est de courte durée. Lorsque le choléra se manifeste par la diarrhée, la

1. Ces microbes ont déjà été mentionnés dans le chap. IV. La torula est un champignon dont les cultures sur gélose exhalent une odeur aromatique rappelant celle des roses sèches. La sarcine donne des petits groupements et se distingue par des capsules très développées. Ses cultures sont blanches; en couches épaisses elles prennent une teinte légèrement jaunâtre. Le bacille de l'estomac rentre dans le groupe des coliformes. Ses cultures sur gélose ont un reflet nacré et exhalent une odeur désagréable. Le bacille fait fermenter la lactose en produisant de l'acide lactique droit, d'après le renseignement qui m'a obligeamment été fourni par M. Péré.

maladie est encore quelquefois courte, mais le plus souvent elle se prolonge pendant un temps variable selon les circonstances. La diarrhée est composée d'un liquide incolore, inodore et séreux, qui se répand sur le fond du cristalliseur dans lequel on maintient le lapin, et tache le ventre, la queue et les extrémités des animaux malades lorsqu'ils sont dans leur nid. Au liquide s'associe une mucosité transparente, avec grumeaux de mucus, ronds et colorés en jaune clair. Sur les préparations faites avec le liquide et le mucus, on trouve des quantités de vibrions cholériques, souvent en culture presque pure.

Je n'ai jamais observé de vomissements, et les crampes n'étaient saisissables que peu de temps avant la mort, comme cela ce voit presque dans toutes les maladies mortelles autres que le choléra. L'anurie a été souvent observée, mais dans quelques cas, les lapins, pendant le choléra, urinaient en petite quantité. Dans les cas de guérison, qu'on n'a observés que chez des lapins qui avaient absorbé des vibrions sans les microbes favorisants, il y a eu une polyurie très prononcée, et prolongée pendant plusieurs jours.

Lorsqu'on prend dans la main un lapin cholérique, on est frappé par la mollesse du ventre, due à l'absence de tension des muscles abdominaux. Le lapin malade devient triste et immobile, s'affaiblit visiblement et tient les yeux à demi fermés. La température baisse lentement ou rapidement, selon les cas, jusqu'à 30° et au-dessous. L'hyperthermie est un phénomène que je n'ai observé que dans des cas exceptionnels. J'ai vu une fois la température monter jusqu'à 41°2 (la température normale des jeunes lapins est entre 38° et 39°), ce qui n'a pas empêché le lapin de mourir le lendemain. Par contre je n'ai jamais observé d'élévation de température post-mortelle. Au moment de la mort, la température dans le rectum est voisine de la température ambiante.

La diarrhée cesse souvent avant la mort, et l'agonie est quelquefois très longue. Le museau se refroidit, devient cyanosé, et l'animal reste couché, secoué par des convulsions passagères et des mouvements respiratoires pénibles et lents. On observe dans certains cas une vraie suffocation.

Le tableau anatomo-pathologique est très typique. Le cœur et les poumons sont normaux. Le foie ne présente aucune anomalie

caractéristique. Souvent il est congestionné; d'autres fois, au contraire, anémique. La vésicule biliaire, à de rares exceptions près, renferme une quantité moyenne de bile, couleur vert foncé. La rate est petite, souvent pâle. Les reins ne manifestent aucun changement constant. Pâles à la surface, ils sont souvent congestionnés dans la couche médullaire. La vessie est vide dans la grande majorité des cas. Rarement elle contient un peu d'urine jaune ou jaunâtre, qui ne renferme jamais d'albumine; la réaction de l'indican fait également défaut.

Il ne se forme jamais d'épanchement péritonéal ou autre, et les organes abdominaux, tels que l'appareil sexuel et la vessie, ne sont jamais hyperémiés.

L'estomac est normal, sauf de très rares exceptions. Il est très distendu par le lait coagulé, entouré d'une couche de mucus transparent. La réaction est presque toujours franchement acide. La paroi n'est jamais congestionnée, mais on distingue quelques arborescences vasculaires.

L'organe atteint dans le choléra intestinal est l'intestin grêle. Il est toujours hyperémié, surtout dans sa partie supérieure, à partir du duodénum. Souvent, cette hyperémie est diffuse et communique à l'intestin la couleur hortensia si caractéristique. Dans les parties inférieures de l'iléum, l'hyperémie devient plus différenciée, et prend une teinte rouge écarlate. Les vaisseaux du mésentère sont également congestionnés. L'intestin grêle est distendu dans toute ou la majeure partie de sa longueur, et renferme un liquide louche, souvent glaireux. Le gros intestin et notamment le cœcum, ne sont presque jamais hyperémiés. Le plus souvent leur paroi est très pâle, mais le cœcum est toujours distendu très fortement, souvent dans des proportions extraordinaires. Cet organe renferme une grande quantité de sérosité très liquide, transparente ou louche, avec des flocons de mucus incolore ou coloré en jaune citron. Souvent l'aspect du liquide est tout à fait le même que celui de la diarrhée riziforme dans le choléra humain. Le liquide est toujours alcalin; lorsqu'il est transparent, il ne se trouble pas, chauffé à 100°. Dans le côlon et le rectum, on le retrouve avec les mêmes particularités, mais quelquefois ces parties de l'intestin renferment plus de mucus que le cœcum.

Ce tableau anatomique est tellement net et prononcé qu'on

le reconnaît déjà après avoir rabattu la peau de l'abdomen. A travers les muscles, on distingue le côlon rempli de liquide, et une partie de l'intestin grêle congestionné. En appuyant le doigt sur l'abdomen, on sent le mouvement du liquide et on perçoit le bruit dû à son écoulement. La quantité de liquide dans le cœcum est si considérable, même dans des cas où la diarrhée était très forte pendant la maladie, qu'il faut supposer une certaine action paralysante du virus cholérique sur la musculature intestinale.

L'étude microscopique et microbique corrobore de son côté le caractère cholérique de la maladie des lapins. Nous avons déjà mentionné la fréquence des vibrions cholériques dans les déjections diarrhéiques de ces animaux. Le contenu de l'estomac ne renferme que rarement des vibrions ; quelquefois j'ai pu en constater un grand nombre dans l'estomac de réaction nettement acide. C'est l'intestin grêle qui est le siège principal des vibrions cholériques. Le liquide muqueux qui le remplit en renferme de telles quantités, qu'on en voit des masses sans mélange d'aucun autre microbe. Le contenu de l'intestin grêle, semé sur différents milieux nutritifs, donne dans la grande majorité des cas des cultures pures de vibron cholérique. Quelquefois il s'y associe un petit nombre d'autres bactéries. Lorsque le choléra se prolonge d'une façon anormale, la quantité de ces bactéries étrangères devient plus considérable.

Le contenu du cœcum renferme également de grandes quantités de vibrions cholériques. Mais à côté d'eux, il y a toujours plusieurs autres espèces bactériennes en quantité variable. Des ensemencements avec le liquide cœcal donnent plus rarement des cultures pures de bacilles-virgules. On trouve toujours avec eux d'autres bactéries, comme les bacilles coliformes et souvent de gros bacilles avec des endospores ovales.

Le vibron cholérique se localise principalement dans l'intestin grêle, et pénètre régulièrement dans le gros intestin, mais rarement dans l'estomac. En dehors de l'intestin, il se rencontre le plus souvent dans la vésicule biliaire. Sur seize cas, examinés sous ce rapport, la bile a donné des cultures de vibrions 8 fois (50 0/0). La pénétration dans le foie est plus rare : sur 24 cas, les vibrions ont été obtenus en culture dans 8 (33 0/0). Il est très probable que c'est dans les voies biliaires du foie que résident

les microbes cholériques. La généralisation de ces derniers dans le sang a été observée dans un quart des cas étudiés. Sur 48 lapins, examinés sous ce rapport, 12 (c'est-à-dire 25 0/0) ont donné des cultures du vibron cholérique avec le sang du cœur. Ces exemples se trouvent répartis parmi les cas de choléra de courte durée, aussi bien que parmi ceux qui ont duré plusieurs jours.

Le plus souvent (75 0/0), le vibron cholérique reste donc localisé dans l'appareil digestif et ses annexes (foie). La généralisation des microbes favorisants n'a été observée que dans des cas exceptionnels. Le plus souvent on ne pouvait retrouver ni au microscope, ni à l'aide de cultures, aucun des trois microbes ingérés avec le choléra. La torula ne s'est jamais généralisée, la sarcine n'a été retrouvée qu'une fois dans la bile, et une autre fois dans le sang du cœur.

L'examen des coupes confirme la localisation du processus cholérique dans l'intestin grêle. Lorsqu'on étudie les coupes de cet organe, enlevé sur des lapins morts du choléra, on est frappé par la destruction de la muqueuse (Pl. XI, fig. 1, 2). Des villosités entièrement dénudées font saillie dans la lumière intestinale, montrant leurs vaisseaux sanguins congestionnés à un très haut degré. L'épithélium se desquame par grands lambeaux, ou bien des cellules isolées se détachent et tombent dans le contenu intestinal. Le tout est mélangé avec une mucosité dans laquelle on trouve des amas de vibrions cholériques, parfois très considérables.

La réaction leucocytaire est en général faible. Quelquefois on trouve une quantité de leucocytes au-dessus de la normale dans les vaisseaux hyperémiés. Le nombre des leucocytes émigrés dans la muqueuse est petit.

Dans les cas qui constituent la règle, les vibrions restent localisés dans le contenu et la muqueuse de l'intestin. Lorsqu'il y a généralisation du vibron, on le trouve dans la couche péritonéale et dans le sang des organes.

L'étude histologique du foie et des reins n'a révélé que des altérations peu constantes et secondaires. Les lésions rénales, si souvent décrites chez l'homme, n'ont pu être retrouvées chez les lapins cholériques.

Pour me faire une idée sur le développement du processus cholérique, si caractéristique chez les jeunes lapins, j'en ai sacrifié plusieurs à différentes périodes après l'absorption du

virus. Pendant les premières heures de l'expérience, l'examen microscopique ne révèle rien d'anormal. L'estomac, rempli de lait coagulé, garde sa réaction acide, ce qui n'empêche pas les vibrions de pénétrer dans l'intestin. Celui-ci, à partir de quatre heures après l'absorption du virus, présente déjà une congestion assez marquée. Chez un lapin, sacrifié 16 heures après qu'il avait avalé une culture de vibron de Massaouah, associée avec celles de la torula, de la sarcine et du bacille coliforme de l'estomac humain, le tableau microscopique présentait déjà les traits principaux du choléra intestinal. L'intestin grêle, hyperémié à un degré moyen (nulle part de teinte hortensia), était distendu par un contenu liquide couleur d'ocre. Le cœcum et les autres parties du gros intestin, non congestionnés, étaient remplis d'un liquide trouble.

L'examen bactériologique montra la présence d'un petit nombre de vibrions cholériques dans l'estomac (de réaction toujours acide), mais en révéla une grande quantité dans l'iléum, le cœcum et le rectum. Ensemencé dans différents milieux nutritifs (plaques de gélose, eau peptonisée) le contenu de ces organes donna déjà, au bout de 3 heures $1/2$, des cultures abondantes du vibron de Massaouah. Mais, tandis que celui-ci s'installait si fortement dans les intestins, les microbes favorisants n'ont pu être retrouvés que dans les premières heures du processus. Il faut admettre que leur rôle consiste à favoriser les premiers moments de la vie parasitaire du vibron; une fois que ce dernier a pris possession du terrain, les microbes favorisants deviennent inutiles, de sorte que leur disparition n'empêche pas la continuation du processus cholérique. Comme il a été mentionné plus haut, ce n'est que dans des cas exceptionnels que quelques-uns parmi ces microbes favorisants persistent, et même se généralisent dans l'organisme.

Des coupes de l'intestin grêle du lapin, sacrifié après 16 heures, nous apprennent que, malgré la pullulation des vibrions, l'épithélium reste encore intact. (Pl. XI, fig. 3.) Et cependant le commencement de l'empoisonnement s'est déjà fait et se manifeste par une hyperémie marquée de l'intestin grêle, et par une exsudation du liquide dans l'iléum et le cœcum.

Comme nous l'avons indiqué plus haut, le vibron cholérique pénètre à l'état vivant à travers l'estomac acide, même sans le

secours d'autres microbes. L'action favorisante de ces derniers se manifeste peut-être en ce sens qu'ils facilitent la production de toxines par le vibrion, et lui permettent de prendre le dessus sur les microbes du canal digestif. Ces points devront être élucidés par des recherches ultérieures. Mais il reste certain que, dans cette association microbienne, il ne s'agit pas d'une infection mixte, mais bien de quelque chose d'analogue avec ce qui a été établi par M. Vaillard et ses collaborateurs au sujet du tétanos. Le vibrion de Koch est tout aussi bien le microbe spécifique du choléra, que le bacille de Nicolaïer est l'agent producteur du tétanos. Comme ce dernier trouve de la part des phagocytes un grand obstacle à sa germination, le concours de certains microbes lui est nécessaire pour manifester ses propriétés pathogènes. Mais une fois que le bacille du tétanos a commencé à se développer, les bactéries favorisantes deviennent inutiles, et tout le processus tétanique proprement dit est l'œuvre unique du microbe spécifique. Le vibrion de Koch se heurte aussi à des obstacles dans le canal digestif, et utilise quelque action favorisante des microbes associés pour les franchir et pour développer son pouvoir cholérigène, conservant toujours le monopole d'être le microbe spécifique du choléra intestinal. Les microbes favorisants s'effacent aussitôt qu'ils ont accompli leur rôle, et on ne les trouve plus ni dans le contenu de l'intestin ni dans les déjections.

Ce n'est qu'à une période plus avancée de la maladie que la toxine cholérique, élaborée dans l'intestin, altère la muqueuse et produit la desquamation de l'épithélium. Quelquefois on trouve, même chez des lapins morts du choléra, des lésions intestinales peu prononcées. Il y a donc lieu de considérer le processus du choléra intestinal des jeunes lapins comme une intoxication par des vibrions développés dans le contenu des intestins. Malgré la sensibilité de ces animaux pour le virus cholérique, celui-ci ne se généralise pas dans l'organisme, au moins dans la grande majorité des cas. Il s'agit donc d'une intoxication consécutive à l'infection du tube digestif par le vibrion de Koch.

On a plusieurs fois observé, et c'est surtout M. Sobernheim¹ qui a fourni des données probantes, que, pour obtenir le choléra intestinal des cobayes d'après le procédé de M. Koch (alcalinisation de

1. *Zeitschr. f. Hygiene*, 1893, t. XIV, p. 474.

l'estomac et teinture d'opium), il fallait employer à peu près la même dose de virus vivant que celle qui est nécessaire pour empoisonner le cobaye avec des vibrions préalablement tués. Dans ce cas, il n'y a donc pas d'infection du tube digestif proprement dit, et il s'agit simplement d'une intoxication avec le virus, introduit à l'état vivant. Le choléra intestinal des jeunes lapins est bien différent sous ce rapport. Quoique je me sois servi toujours au moins d'une culture entière, développée sur la surface de la gélose¹, des quantités de vibrions beaucoup plus petits suffisent déjà pour donner le choléra intestinal à de jeunes lapins. Je n'ai pas eu besoin de faire des expériences particulières sur cette question, parce que dans le courant de mes recherches j'ai eu occasion de la résoudre bien facilement. Il se produit assez souvent une contamination spontanée de jeunes lapins. Lorsque, dans une nichée de lapins, on ne donne à manger les microbes (le vibron cholérique avec les favorisants) qu'à quelques lapins, certains autres de la même portée prennent le choléra spontané. La contamination se fait évidemment par l'intermédiaire des mamelles, souillées par les microbes, absorbés par quelques-uns des jeunes. L'examen bactériologique de la cavité buccale de ceux d'entre eux qui ont consommé les microbes, examen pratiqué quelques heures après le début de l'expérience, démontre la présence d'une quantité de vibrions cholériques, ainsi que de microbes favorisants. Tétant la mamelle, les lapins déposent ainsi une partie de leur flore buccale, qui est ensuite absorbée par leurs frères n'ayant pas servi à l'expérience. J'ai observé treize cas de contamination spontanée, contractée de cette façon. Les quantités de virus et de microbes favorisants qui ont amené ce résultat ont dû être très petites. La maladie ne présentait aucune particularité, et était le tableau fidèle du choléra expérimental. Je dois ajouter que ces cas de contagion spontanée se sont produits au moment de la plus grande chaleur, aux mois de juin et de juillet.

La majeure partie de mes expériences a été faite avec le vibron de Massaouah, parce qu'il est le plus virulent de toutes les variétés dont je disposais pour le moment. Mais comme on a exprimé des doutes sur le caractère cholérigène de ce microbe,

1. Dans toutes les expériences de ce mémoire, je me servais de gélose inclinée dans des tubes de 13,5 cm. de longueur et de 1,3 cm. de diamètre.

j'ai dû m'adresser à une race en dehors de tout soupçon. Dans ce but, j'ai choisi le vibron isolé des selles du choléra expérimental de l'homme décrit dans le premier chapitre, choléra provoqué par l'ingestion du vibron de Versailles (Seine). Il avait l'avantage, sur celui du choléra de Paris 1884, d'être virulent pour les cobayes.

Le vibron de Versailles, ingéré avec les trois microbes favorisants, par cinq lapins de 4 à 7 jours, leur a donné un choléra intestinal mortel, des plus typiques sous tous les rapports. La seule différence avec le choléra produit par le vibron de Massaouah consistait en ceci, que le liquide du cæcum était transparent et clair comme de l'eau, tandis que, avec le vibron de Massaouah, ce liquide est plus trouble. Le vibron de Versailles s'est montré très envahissant, et a donné le choléra mortel à quatre autres lapins de la même nichée auxquels je n'avais fait ingérer aucune culture. Deux autres lapins de la même portée, dont un reçut par voie buccale les microbes favorisants avec une culture du vibron de Finkler et Prior, tandis que l'autre absorba les microbes favorisants avec le vibron de Deneke, moururent du choléra intestinal typique, cinq et quatre jours après le début de l'expérience. Seulement, à l'autopsie, il a été facile de démontrer que cette maladie a été provoquée, non par les vibrons de Finkler et Prior et de Deneke, mais bien par celui de Versailles, facilement reconnaissable à sa forme mince et à la réaction indol-nitreuse intense dans des cultures. Cette expérience, qui démontre encore une fois la facilité avec laquelle se fait la contagion spontanée, indique qu'il ne faut pas se servir de lapins de la même nichée pour les expériences sur l'absorption de différents microbes.

Le choléra intestinal peut être facilement obtenu, tant que les lapins ne se nourrissent que du lait de la mère. A partir du moment où ils commencent à manger du foin, le résultat devient très incertain, et bientôt s'établit une immunité que, jusqu'à présent, je n'ai pu vaincre avec aucun des microbes favorisants connus. Une de mes lapines se distinguait par l'habitude de manger ses petits, aussitôt qu'elle les voyait très malades. Plusieurs ont pu être retirés dans un état suffisant pour que je puisse constater le choléra intestinal. Trois autres, soumis à la même expérience, ont été dévorés par la mère. Je cite ce cas

pour signaler que ce repas n'a aucunement altéré la santé de la lapine, et ne lui a pas causé la moindre diarrhée.

Une expérience dans laquelle j'ai donné à avaler à un jeune lapin plusieurs gouttes du contenu du cœcum d'un lapin mort du choléra intestinal, sans ajouter les microbes favorisants, n'a donné qu'un résultat négatif. Et cependant le contenu du cœcum renfermait des quantités de vibrions de Massaouah.

Les jeunes lapins qui ne se nourrissent que de lait de lapine, prennent le choléra intestinal, par voie buccale, sans alcalisation du suc gastrique. La maladie est provoquée par le vibrion cholérique, dont l'action est secondée par des microbes favorisants. Ce choléra des lapins, malgré l'absence de certains symptômes cliniques (vomissements, crampes, albuminurie), présente cependant une grande analogie avec le choléra humain. C'est une affection de l'intestin grêle, caractérisée par l'empoisonnement au moyen des toxines vibrionniennes, élaborées dans le contenu intestinal. Le choléra des jeunes lapins est contagieux, et peut se transmettre à l'aide des mamelles de la mère, souillées par des microbes.

VII

LE CHOLÉRA INTESTINAL DES JEUNES COBAYES.

Le cobaye, cette espèce si sensible au vibrion cholérique introduit dans la cavité péritonéale, est notablement plus résistant que le lapin contre le choléra intestinal. Comme il serait difficile d'attribuer cette immunité relative à des propriétés des tissus, il est beaucoup plus probable qu'elle est en rapport avec le genre de vie des jeunes cobayes. Dès le premier ou le second jour après la naissance, ils commencent à se nourrir de végétaux, ce qui enrichit leur flore intestinale d'une façon très notable. L'influence de ces microbes doit être la cause des irrégularités, dans la marche du choléra intestinal observé chez le cobaye : c'est elle qui empêche si souvent le développement de cette maladie. Je dois prévenir le lecteur que tous les cas de choléra intestinal que j'ai observés chez les jeunes cobayes ont été obtenus avec le vibrion de Massaouah. Celles de mes expériences, dans lesquelles je m'étais servi du vibrion de Versailles (Seine), n'ont abouti à aucun résultat positif.

Il est très difficile d'obtenir le choléra intestinal des jeunes cobayes (d'un ou quelques jours de vie) avec le vibron de Massaouah seul. Dans la très grande majorité de mes expériences, je l'ai donc combiné avec des microbes favorisants qui m'ont servi pour des lapins. J'ai fait toute sorte de combinaisons, dont la meilleure est encore celle qui a été appliquée pour les lapins (torula, sarcine et bacille lactique de l'estomac).

Sur 19 jeunes cobayes traités de cette façon, treize seulement sont morts du choléra intestinal, et cela malgré l'absorption d'une quantité de vibrions double de celle donnée aux lapins. Cette maladie qui se contracte si difficilement présente aussi des caractères moins prononcés et moins typiques. La diarrhée ne se développe que rarement. Jamais je n'ai observé de vomissements, ni de crampes, ni d'albuminurie. Les cobayes s'affaiblissent notablement, leur température baisse, les poils se hérissent et les parties nues deviennent cyanotiques. L'agonie est souvent très prolongée.

Le tableau pathologo-anatomique diffère de celui offert par les lapins en ce que les lésions intestinales sont moins prononcées, tandis que l'estomac est affecté dans le plus grand nombre des cas. Sa paroi est fortement congestionnée; le contenu liquide, de réaction alcaline, renferme des quantités de vibrions. On voit bien que ce sont ces microbes qui provoquent la maladie. Lorsqu'ils résident en grand nombre dans l'estomac, c'est cet organe qui est le plus atteint; lorsqu'au contraire ils se logent dans l'intestin grêle, c'est celui-ci qui est le plus hyperémié. Le cœcum, non congestionné, renferme le plus souvent des quantités de vibrions, mélangés avec d'autres microbes. Le contenu cœcal est quelquefois liquide et couleur d'ocre : dans d'autres cas il se rapproche de l'état normal.

Les cultures sur plaques de gélose et dans l'eau peptonisée, faites avec les organes digestifs des cobayes cholériques, ont donné des vibrions de Massaouah en abondance. Le contenu stomacal donnait souvent des cultures pures ou presque pures de ce microbe. Une fois j'ai obtenu des colonies de la torula ingérée, et très souvent des colonies de bacilles de l'intestin. L'intestin grêle donne le plus souvent des cultures pures du vibron de Massaouah, tandis que l'ensemencement du contenu cœcal donne ce vibron associé à un certain nombre d'autres microbes.

Chez les jeunes cobayes, le tableau anatomique du choléra intestinal est donc beaucoup moins prononcé que chez les lapins. Par contre la généralisation du vibrion cholérique est beaucoup plus fréquente chez le premier. Sur 18 cas, étudiés sous ce rapport, 13 fois le sang du cœur a donné des cultures pures de vibrion de Massaouah.

Le fait que chez deux représentants du même ordre des rongeurs, le choléra, provoqué par le même microbe, s'accompagne de différences spécifiques, pourra faire comprendre l'absence de certains symptômes cliniques et la présence de certaines particularités anatomiques signalées dans le choléra des lapins, comparé à celui de l'homme. Des différences analogues s'observent aussi dans d'autres maladies infectieuses.

Des souris, âgées de sept jours, ne prennent pas le choléra, malgré l'ingestion des vibrions de Massaouah avec les trois microbes favorisants. Deux petits chiens, de la même portée que ceux qui ont été mentionnés dans le chapitre V, ont avalé deux cultures de vibrion de Massaouah sur gélose, avec les trois microbes favorisants. Les animaux continuèrent à se bien porter, et l'un d'eux a été sacrifié 15 jours après le début de l'expérience. Les vibrions de Massaouah ont été retrouvés en grande quantité dans le contenu du rectum, et ont donné des cultures typiques dans l'eau peptonisée. Ces microbes ont donc pu traverser l'estomac très acide et se fixer dans le tube digestif, sans avoir provoqué le moindre trouble.

Les cobayes, âgés de quelques jours, sont sensibles à l'action du vibrion de Massaouah ingéré avec les microbes favorisants. Le choléra intestinal, ainsi provoqué, est moins caractéristique que celui des jeunes lapins. Les jeunes cobayes prennent plus difficilement que les lapins le choléra intestinal, mais le vibrion cholérique a une tendance plus grande à se généraliser dans l'organisme du cobaye.

VIII

TENTATIVES POUR EMPÊCHER LE CHOLÉRA INTESTINAL DES JEUNES RONGEURS.

A. Vaccination avec des cultures stérilisées.

L'opinion des auteurs qui se sont occupés de la vaccination des cobayes contre le choléra, donné par l'estomac d'après la méthode de M. Koch, est, comme on sait, très divisée. Tandis

qu'un certain nombre d'expérimentateurs (MM. Gamaleïa, Brieger, Kitasato et Wassermann, Hafkine, G. Klemperer) affirment la possibilité de vacciner, par des inoculations préventives, les cobayes contre cette forme d'intoxication intestinale, plusieurs savants se sont prononcés récemment en sens contraire. MM. Pfeiffer et Wassermann¹ et, indépendamment d'eux, M. Sobernheim², sont arrivés à la même conclusion, à savoir que les cobayes, vaccinés contre la péritonite cholérique, ne le sont pas contre le choléra provoqué par la méthode de M. Koch. Comme dans ce procédé on a recours à la teinture d'opium, on pourrait objecter que cette substance agit comme poison sur les éléments cellulaires, et empêche la manifestation de l'immunité acquise. Cette supposition a pu être confirmée par les recherches récentes de M. Cantacuzène³. Il a vu des cobayes bien vaccinés mourir à la suite d'injection intrapéritonéale des vibrions, accompagnée d'une dose non mortelle de la teinture d'opium.

Dans ses recherches sur le choléra intestinal des spermophiles, obtenu sans intervention de l'opium, M. Zabolotny signale le fait que les spermophiles, vaccinés par voie sous-cutanée ou péritonéale, ne sont pas protégés contre le choléra intestinal.

Pour mes expériences de vaccination avec des cultures stérilisées, je me suis servi d'une culture de vibron de Massaouah en bouillon peptonisé, développée pendant un mois à 36°, stérilisée à 120° et maintenue pendant 50 jours au laboratoire. Des quantités infinitésimales de ces cultures suffisent pour vacciner des cobayes. Aussi, parallèlement à la vaccination des jeunes lapins, j'ai pratiqué celle des cobayes adultes contre la péritonite cholérique. Trois cobayes vaccinés et deux témoins ont été éprouvés avec des doses sûrement mortelles de virus. Les témoins mouraient avec une généralisation des vibrions : les trois vaccinés résistèrent parfaitement bien.

Un lapin de 4 jours reçut dans le tissu sous-cutané 0,1 c. c. de la culture mentionnée, mêlée avec 0,3 c. c. de bouillon. Le lendemain, le même lapin et un autre, âgé de 5 jours, reçurent la même dose de la même culture. 3 jours après, je leur injectai 0,1 c. c. de culture de Massaouah

1. *Zeitschr. f. Hygiene*, t. XIV, 1893, p. 60.

2. *Ibid.*, p. 499.

3. Mode de destruction du vibron cholérique, 1894, p. 154.

stérilisée à 120°. 2 jours plus tard ils reçurent encore 0,2 c. c. de la même culture. En tout le premier lapin reçut 0,5 c. c. et le second 0,4 c. c. de toxines. 3 jours après la dernière dose vaccinale, je leur ai donné, ainsi qu'à un lapin (témoin) de la même nichée, à avaler une culture sur gélose du vibron de Massaouah et des 3 microbes favorisants (torula, sarcine et bacille coliforme de l'estomac). 2 jours plus tard les 3 lapins avalent encore une culture des microbes favorisants. Le lapin, qui avait reçu 0,5 c. c. de toxines, tomba malade le premier. 4 jours après l'ingestion des vibrions, et 13 jours après la première dose vaccinale, il se déclara chez lui une diarrhée riziforme; les flocons de mucus renfermaient le vibron sans autres microbes. La faiblesse était très prononcée. T. 36°. Le lendemain matin ce lapin a été trouvé mort. L'autopsie révéla le choléra typique. Le sang du cœur n'a pas donné de cultures; mais le contenu de l'iléum et du cœcum, ainsi que le liquide de la diarrhée ont donné des cultures abondantes et presque pures du vibron de Massaouah. Le lapin témoin est mort un jour après le premier vacciné, avec des signes du choléra intestinal des plus typiques. Le second vacciné a vécu 11 jours de plus que le témoin. Il est mort avec des signes de choléra peu prononcés, et cependant le contenu de son cœcum a donné une culture pure du vibron de Massaouah.

Dans une seconde expérience, semblable à la première, les doses vaccinales des deux lapins ont atteint 0,4 c. c. de culture stérilisée (injection sous-cutanée). 2 jours après la dernière dose vaccinale, les deux lapins, ainsi qu'un témoin (de la même nichée) avalèrent une culture de vibron de Massaouah avec les trois microbes favorisants. 2 jours plus tard cette dose a été renouvelée pour un des vaccinés et le témoin. 3 jours après la première ingestion des microbes, un des vaccinés mourut. Atteint d'une diarrhée très forte, il a succombé avec les signes typiques du choléra intestinal sans généralisation dans le sang. Le contenu des intestins, comme le liquide diarrhéique, ont donné des cultures abondantes du vibron de Massaouah. 1 jour après mourut le second vacciné, également avec la diarrhée et des signes du choléra intestinal des plus caractéristiques. Le témoin, bien qu'il ait avalé deux fois plus de virus que le premier vacciné, a survécu et se porte très bien. Il est un des deux lapins (sur 22) qui ont résisté au vibron, associé avec les microbes favorisants.

Les cultures stérilisées du vibron de Massaouah, qui ont si facilement préservé trois cobayes contre la péritonite cholérique¹, n'ont pas empêché quatre jeunes lapins de mourir du choléra, contre lequel a résisté un des deux témoins.

B. Vaccination avec des cultures vivantes.

Les cultures vivantes de vibron de Massaouah sont vaccinales contre la péritonite cholérique des cobayes et des lapins :

1. Les cobayes ont été vaccinés dans le tissu sous-cutané avec à peu près les mêmes doses de cultures stérilisées, par rapport au poids.

1 250° d'une culture sur gélose et quelquefois même une moindre quantité suffisent pour vacciner un cobaye adulte. Dans l'expérience que je suis obligé de rapporter avec quelques détails, je vaccinaï mes animaux (jeunes lapins et cobayes adultes) par des injections sous-cutanées de cultures vivantes. La vaccination était commencée sur des lapins âgés de 3 jours et tous de la même nichée. Chaque animal reçut deux doses vaccinales.

Deux petits lapins, n°s 1 et 2 (poids 45 et 68 grammes), reçurent sous la peau de la cuisse 1/64° d'une culture de vibrion de Massaouah sur gélose, développée pendant 24 heures à 36° et conservée pendant 35 jours au laboratoire; deux autres n°s 3 et 4 (de 57 et 54 grammes) reçurent en même temps 1/32° de la même culture, sous la peau du ventre. Un cobaye (poids 245 grammes) reçut sous la peau du ventre 1/32, et un autre (de 245 grammes) 1/16° de la même culture. 4 jours après, les quatre lapins cités reçurent sous la peau du ventre 1/16° d'une culture vivante de Massaouah, développée pendant 17 heures à 36°. Les deux cobayes déjà mentionnés, ainsi qu'un troisième, reçurent également sous la peau du ventre 0,1 c. c. de la même culture. Ces derniers ont été éprouvés avec une dose plus que mortelle du virus : 54 heures après la seconde injection vaccinale, deux cobayes vaccinés ainsi qu'un témoin neuf (de 270 grammes) reçurent un dixième de culture sur gélose inclinée, développée à 36° pendant 24 heures. Le témoin mourut dans la nuit avec une masse de vibrions libres dans l'exsudat péritonéal; les cobayes vaccinés ont parfaitement résisté à l'épreuve. 3 jours après la seconde injection vaccinale, le troisième cobaye avec deux témoins (de 268 et 340 grammes) reçurent 0,1 de culture de vibrion de Massaouah sur gélose. Les deux témoins moururent dans la nuit avec des quantités de vibrions libres dans l'exsudat péritonéal (le sang des trois cobayes témoins a donné des cultures du vibrion de Massaouah; le cobaye vacciné est resté bien portant. Quoique vaccinés (par rapport au poids), avec des doses beaucoup plus faibles que les quatre lapins, les cobayes se sont donc montrés parfaitement résistants.

Trois jours après la seconde dose vaccinale, deux des lapins (n°s 1 et 2), ainsi que deux témoins de la même nichée, ont avalé une culture de vibrion de Massaouah, développée sur gélose (à 36°) pendant 24 heures, avec les trois microbes favorisants. Deux jours plus tard, ils avalèrent encore une culture des microbes favorisants, sans le vibrion de Massaouah. Le troisième jour après cette dose, le premier des lapins vaccinés a été pris de diarrhée cholérique qui s'accrut le lendemain. La température (37°,3), voisine de la normale le premier jour de la maladie, tomba le lendemain jusqu'à 34°. Le jour suivant, la diarrhée et la faiblesse devinrent encore plus grandes, et la température baissa à 33°,7, puis à 31°,5. Le lapin vécut cependant encore et ne mourut que le lendemain avec une longue agonie et une température de 27°,5. L'autopsie révéla le choléra intestinal typique. Le contenu de l'iléum et du cœcum, fortement dilatés par le liquide diarrhéique

donna des cultures abondantes du vibron, auquel était mélangé un certain nombre de bacilles. Le sang et la bile demeurèrent stériles.

Un des lapins témoins fut pris de diarrhée le lendemain après la mort du premier vacciné. Il mourut deux jours après ce dernier, du choléra intestinal typique.

Le second des vaccinés tomba malade le jour de la mort du premier témoin. Il se déclara chez lui une diarrhée, accompagnée de grande faiblesse. Le liquide diarrhéique, comme c'est la règle, renfermait beaucoup de vibrions de Massaouah, et donnait des cultures abondantes de ce microbe. Le lendemain, la diarrhée diminua et l'état général s'améliora (T. 37°,0; 36°,7; 36°,5; 37°,0); mais le surlendemain les symptômes s'aggravèrent, la température baissa à 34°,3 et le lapin mourut le jour suivant, après une longue agonie. L'autopsie révéla les lésions typiques du choléra intestinal : la partie supérieure de l'intestin grêle très congestionnée, le cœcum fortement dilaté avec une grande quantité de liquide, fournissant par culture des quantités de vibrions de Massaouah. Le sang, la bile et le foie n'ont donné aucune culture, mais le rein a produit dans de l'eau peptonisée un voile avec du vibron de Massaouah.

Le second témoin a eu un peu de diarrhée, sans aucun trouble général, et est resté bien portant.

Cinq jours après la seconde injection vaccinale, les deux lapins n°s 3 et 4 ont avalé une culture des microbes favorisants et une culture du vibron de Massaouah. Les mêmes microbes et en même quantité ont été absorbés par un lapin neuf de la même nichée (témoin).

Le lendemain un des vaccinés (le n° 4) a été pris de diarrhée très forte, accompagnée de faiblesse et d'hypothermie (34°,3). Il est mort dans la nuit, avec des signes du choléra intestinal (partie supérieure de l'intestin grêle couleur hortensia, cœcum très dilaté par la sérosité diarrhéique). L'iléum et le cœcum ont donné des cultures presque pures du vibron de Massaouah, tandis que le sang du cœur, la bile et le foie se sont montrés stériles.

Le lendemain de la mort de ce lapin, le témoin mourut, également avec des signes de choléra intestinal bien caractéristique.

Le second des vaccinés (n° 3) est resté bien portant.

Dans l'expérience avec les vaccins vivants, ceux-ci ne se sont pas montrés plus efficaces que les cultures stérilisées. Sur quatre lapins vaccinés, un a définitivement résisté, mais, des trois témoins, un a survécu également, et cela sans aucune vaccination ou traitement.

Comme nous l'avons vu, le choléra intestinal des lapins est un empoisonnement par les toxines préparées dans le canal digestif. Or, comme cela a été démontré dans plusieurs travaux, la vaccination ne protège pas contre l'intoxication de l'organisme. Il est donc facile de concevoir *a priori* qu'un animal, très bien vacciné contre le vibron cholérique introduit dans les tissus,

peut ne pas résister à l'intoxication par un poison préparé dans le contenu intestinal.

C. Vaccination avec le sérum préventif.

Les expériences relatées dans le chapitre précédent ont donné un résultat, concordant avec l'avis des auteurs qui concluent à l'inefficacité de la vaccination par des cultures vivantes ou stérilisées contre le choléra intestinal, provoqué par la méthode de M. Koch. Dans le mémoire où ils traitent ce sujet, MM. Pfeiffer et Wassermann arrivent à la même conclusion par rapport à la prévention contre cette maladie expérimentale avec le sérum très actif, provenant d'une personne guérie du choléra. Tandis que des doses très faibles de ce liquide suffisaient déjà pour empêcher la péritonite cholérique chez des cobayes, des quantités considérables (jusqu'à 5 c. c.) étaient impuissantes pour vacciner ces animaux contre l'infection par la méthode de Koch.

Dans une expérience d'orientation, j'ai fait avaler à deux jeunes lapins, âgés de quatre jours, une culture du bacille coliforme de l'estomac et une culture du vibron de Massaouah (toutes deux développées sur gélose à 35° pendant 24 heures). Un des lapins servait de témoin, tandis que l'autre reçut, avant l'injection des microbes, une injection sous-cutanée d'un c. c. de sérum de lapin, dont 0,2 c. c. étaient suffisants (introduits dans le péritoine) pour protéger un cobaye adulte contre la péritonite cholérique.

Comme l'association des microbes ingérés ne produisait aucun effet, le surlendemain les deux lapins reçurent d'abord une demi-culture du bacille et une culture entière de vibron de Massaouah. Mais l'effet fut encore nul, ce qui pouvait être expliqué par l'insuffisance de la flore favorisante : alors, j'ai donné à mes deux lapins, le quatrième jour de l'expérience, une culture de vibron de Massaouah, cette fois associée avec les trois microbes favorisants. Le lendemain les lapins ont été pris de diarrhée, et mouraient le sixième jour de l'expérience avec tous les signes de choléra intestinal typique.

Bien que la mort simultanée du lapin traité et du témoin indiquât l'impuissance du sérum, on pouvait cependant l'expliquer par la grande quantité de virus absorbé. Dans une seconde expérience il a été tenu compte de cette circonstance.

Trois lapins, âgés de onze jours, reçurent dans le péritoine du sérum provenant d'un cobaye qui a résisté quatre fois au virus de Massaouah, et dont 1/2 c. c. protégeait bien les cobayes contre la péritonite cholérique. Les deux premiers lapins reçurent 0,5 c. c. et le troisième 0,33 c. c. de ce sérum : 25 heures après ils ont avalé, en même temps qu'un lapin témoin

de la même nichée, une culture de vibrion de Massaouah et un des trois microbes favorisants. Le témoin est mort le surlendemain avec tous les signes du choléra intestinal; les trois lapins, traités par le sérum, ont résisté définitivement.

Comme dans cette expérience l'effet préventif du sérum était manifeste, il a été nécessaire de poursuivre l'étude de cette question pour établir les conditions précises dans lesquelles il s'exerce.

Dans une nouvelle expérience, j'ai procédé avec un sérum de lapin qui a résisté trois fois à des doses du vibrion de Massaouah, dont la dernière était plus que suffisante pour tuer un lapin adulte, tandis que les deux premières étaient des doses minimales mortelles. Le sérum de ce lapin protégeait les cobayes neufs contre l'infection par le péritoine. Avec 0,5 c. c., injecté dans la cavité péritonéale, les cobayes étaient si bien vaccinés qu'ils supportaient le choléra péritonéal presque sans trouble. Un cobaye de 317 grammes, auquel j'ai injecté sous la peau 1 c. c. du sérum, résista parfaitement à une dose de culture de Massaouah qui tua le témoin (de 357 gr.) en moins de 42 heures.

Comme les injections intrapéritonéales des jeunes lapins sont dangereuses à cause de la délicatesse des organes, et comme le tissu sous-cutané est chez eux très lâche, j'ai injecté sous la peau de deux lapins, âgés de huit jours, 0,75 c. c. (n° 1) et 0,5 c. c. (n° 2) du sérum mentionné. Le lendemain, juste 24 heures après, j'ai donné à avaler à ces deux lapins, ainsi qu'à quatre autres lapins de la même nichée (n°s 3 à 6), une culture des trois microbes favorisants et du vibrion de Massaouah (les cultures étaient développées sur gélose pendant 25 heures à 36°). Le lapin n° 3 reçut, aussitôt après, 1,2 c. c. du sérum préventif sous la peau, et le n° 4 = 1 c. c. du même sérum dans le péritoine.

Deux jours après l'ingestion des microbes, le lapin n° 1 (qui a reçu 24 heures au paravant 0,75 c. c. de sérum) a été pris d'une diarrhée très violente. Les déjections renfermaient du vibrion de Massaouah presque en culture pure. Ce lapin est mort 48 heures après l'injection des microbes. L'autopsie a confirmé le diagnostic de choléra intestinal typique. Les cultures ont démontré que le vibrion s'est développé à l'état de pureté du contenu de l'iléum, et qu'il ne s'était pas généralisé dans l'organisme : le sang et le foie demeurèrent stériles.

Tandis que le n° 1 n'avait absorbé qu'une seule culture des microbes, les trois autres lapins, traités par le sérum, et les deux témoins avaient avalé encore une fois une culture des trois microbes favorisants, avec le vibrion de Massaouah. Le surlendemain de cette injection, le lapin n° 3 (qui avait reçu 1,2 c. c. de sérum) fut pris d'un choléra très violent, et mourut dans la journée. A l'autopsie, tous les signes du choléra intestinal furent constatés. L'étude bactériologique démontra cette fois aussi l'absence de généralisation

dans les organes. Le contenu de l'iléum donna une culture pure, celui du cœcum une culture presque pure de vibron de Massaouah.

Le lendemain mourut le lapin n° 2 (0,5 c. c. de sérum 24 heures avant l'administration des microbes) après un choléra de courte durée et très violent. Diarrhée profuse. T. 30°. A l'autopsie : forte hyperémie de l'intestin grêle ; par endroits teinte hortensia ; le cœcum, non congestionné, renferme une grande quantité de liquide louche, ne donnant avec de l'acide sulfurique concentré que des traces de la réaction rose (indol-nitreuse.) Le contenu de l'iléum et du cœcum a donné des cultures pures du vibron de Massaouah, le sang du cœur, le foie et le rein demeurèrent stériles.

Quatre jours après la seconde absorption des microbes favorisants, le dernier des lapins (n° 4) traités par le sérum (1 c. c. dans le péritoine), a été pris de choléra violent (diarrhée abondante, T. 28°,2) et mourut bientôt après. Inutile de dire que l'autopsie a confirmé le diagnostic. Il s'agissait encore d'un choléra localisé dans les intestins, sans généralisation de microbes dans le sang et les organes (foie et rein).

Ce n'est que deux jours après la mort du dernier des traités que se déclara la diarrhée chez les deux témoins. L'un d'eux mourut dans la journée d'un choléra typique, non généralisé. La maladie de l'autre dura quatre jours ; après des périodes d'amélioration temporaire (cessation de la diarrhée, relèvement de la T. de 35° à 39°,9), le lapin mourut avec des signes pathologo-anatomiques du choléra, moins typique que chez tous les autres lapins de la même expérience. L'intestin grêle ne présentait qu'une faible hyperémie, les reins étaient très congestionnés par îlots, sans présenter de lésions anatomiques du tissu. Le contenu de l'iléum, du cœcum, ainsi que le parenchyme du foie donnèrent des cultures abondantes de vibron de Massaouah.

Cette expérience a donc abouti à un résultat général tout opposé à celui de l'expérience précédente. Comme le choléra intestinal est une maladie plus compliquée que la péritonite provoquée par les vibrions, on conçoit facilement la plus grande irrégularité des conditions qui la commandent. *Les faits que je viens de citer ne permettent pas de conclure à une prévention efficace du choléra intestinal par le sérum des animaux vaccinés.*

D. Vaccination avec le sérum de cheval.

La seconde expérience avec le sérum préventif n'ayant donné aucun résultat encourageant, j'ai songé à appliquer comme moyen préventif le sérum de cheval normal. D'après MM. Pfeiffer et Issaëff ¹, le sang de cet animal à l'état normal est préventif contre les bactéries cholériques, à un degré équi-

1. Zeitsch. f. Hyg., t. XVII, p. 370.

valent à celui du sang des animaux immunisés contre le choléra. Or, il est évidemment plus facile à se procurer.

Afin de résoudre cette question, j'ai fait une expérience sur quatre lapins de la même portée, âgés de quatre jours. Deux d'entre eux (nos 1 et 2) reçurent sous la peau 1 c. c. de sérum d'un vieux cheval sain, sérum qui m'avait été donné par M. Nocard. Les deux autres (nos 3 et 4) reçurent 0,5 c. c. du même sérum sous la peau de la cuisse. 22 heures après, j'ai donné à avaler aux nos 1 et 2 une culture des trois microbes favorisants et du vibron de Massaouah (les cultures étaient développées à 36° sur gélose pendant 25 heures.) La même dose a été prise par un lapin neuf (témoin) de la même nichée, n° 5. Le lendemain matin le lapin n° 1, traité par 1 c. c. de sérum, a été trouvé mort dans sa cage, avec tous les signes du choléra intestinal.

Un jour après mouraient les deux autres lapins de cette expérience : le n° 2, qui a reçu 1 c. c. de sérum; et le n° 5 — témoin. Chez les deux la maladie a présenté la forme du choléra sec.

Comme ces exemples montraient que même 1 c. c. de sérum était incapable de préserver les lapins, je me suis abstenu de donner à ingérer les microbes à deux autres lapins qui ne reçurent que 0,5 c. c. de sérum. Malgré cela, tous deux ont pris le choléra par voie d'infection spontanée. La mort a été précédée de la diarrhée chez le n° 3. A l'autopsie, je constatai : partie supérieure de l'intestin grêle de la teinte hortensia; cæcum et côlon distendus par le liquide diarrhéique. Le contenu de l'estomac, de réaction acide, renfermait du lait coagulé, mélangé avec un mucus verdâtre. Ensemencé dans l'eau peptonisée, ce contenu, ainsi que celui des intestins, a donné des quantités de vibrions de Massaouah. Par contre le sang, la bile et le foie sont demeurés stériles.

Le dernier des lapins, le n° 4, est mort du choléra sec. L'autopsie le démontra d'une façon indiscutable. Comme faits particuliers de ce cas, je dois signaler la généralisation du vibron (culture pure du vibron de Massaouah avec le sang du cœur) et la réaction indol-nitreuse bien nette (ce qui est très rare dans le choléra intestinal des lapins).

Comme le sérum de cheval normal était absolument incapable d'empêcher le choléra intestinal des jeunes lapins, je l'ai éprouvé sur un cobaye. 2 c. c. de ce sérum, injecté sous la peau d'un cobaye adulte, ne l'ont pas préservé contre la péritonite par le vibron de Massaouah.

La question de savoir si cet échec est dû à l'absence d'une propriété préventive du sang de certains chevaux normaux, ou bien si la différence entre mes résultats et ceux de MM. Pfeiffer et Issaëff dépend de la qualité du virus employé (ces auteurs se sont servis du vibron de Pfeiffer et moi de celui de Massaouah) ne pourra être résolue que par des recherches ultérieures.

L'expérience relatée prouve nettement l'incapacité du sérum de cheval normal pour empêcher le choléra intestinal des lapins provoqué

par le *vibron de Massaouah*. Je me dispense donc de citer ici une seconde expérience, aboutissant à la même conclusion.

E. Tentatives pour empêcher le choléra à l'aide des microbes.

Dans les expériences de vaccination par les cultures ou de prévention par les sérums, le terrain était déjà très bien préparé par les recherches antérieures; au contraire, dans les tentatives pour empêcher le choléra avec des microbes, tout était à reprendre *ab ovo*. Voilà pourquoi les quelques données que je me propose de relater ne doivent être considérées que comme un début.

Un grand nombre de faits laissaient présumer qu'il existe dans la nature des microbes empêchant l'action pathogène du vibron cholérique. L'influence de ces microbes pourrait être mise en cause comme facteur de la résistance de l'homme contre le choléra, si fréquente en général et surtout dans les localités indemnes; cette influence pourrait être invoquée aussi pour expliquer l'immunité si générale et si tenace des animaux.

Comme dans l'étude des microbes favorisants, j'ai commencé par examiner l'effet de certaines bactéries qui ont exercé dans les cultures une influence nuisible sur les vibrions. J'ai donné d'abord à avaler à un lapin, âgé de 6 jours, une culture de vibron de Massaouah et plus tard une culture du bacille pyocyanique, du coccus blanc (mentionné dans le chap. IV) et d'un gros coccus, isolé des déjections de cobaye. Ces trois microbes se distinguaient par leur influence défavorable sur les vibrions, cultivés sur plaques de gélatine. Le lapin témoin de la même portée absorba une culture de vibron de Massaouah avec les trois microbes favorisants. Ce dernier mourut dans la nuit du 3^e au 4^e jour de l'expérience, avec un choléra intestinal tout à fait typique. Le lapin qui absorba le vibron de Massaouah avec les microbes empêchants, se porta très bien et fut sacrifié au quatrième jour après le début de l'expérience. A l'autopsie, les organes ont été trouvés à l'état absolument normal. Le contenu de l'estomac et de l'iléum donna des cultures pures du bacille pyocyanique; celui du cœcum développa un mélange du pyocyanique avec le vibron de Massaouah. Cette expérience indiquait donc une influence empêchante des microbes sur le vibron, qui était relégué jusque dans le rectum.

Dans une autre expérience, un lapin âgé de 4 jours absorba une culture de vibrion de Massaouah avec les trois microbes empêchants cités (bacille pyocyannique, coccus blanc, gros coccus des déjections de cobaye). Il resta bien portant pendant une semaine, après quoi il absorba une culture de trois microbes favorisants (torula, sarcine et bacille coliforme); deux jours après, il absorba encore une fois les mêmes microbes et une culture entière du Massaouah. Comme il continuait à se bien porter, je lui ai administré une nouvelle dose des mêmes microbes. Le lendemain il fut pris de diarrhée et mourut 3 jours après, c'est-à-dire 17 jours après la première prise des vibrions. L'autopsie révéla des lésions intestinales peu typiques pour le choléra. Le contenu de l'iléum et du cæcum donnait des cultures du Massaouah mélangé avec d'autres microbes.

Comme cette expérience, ainsi que plusieurs autres analogues, m'a montré que le bacille pyocyannique peut être lui-même pathogène pour les jeunes lapins qui l'avaient absorbé, je me suis décidé à l'exclure de mes recherches ultérieures. J'ai alors porté mon choix sur un bacille qui liquéfie la gélatine d'une façon extraordinaire, et qui donne, sur des plaques avec ce milieu nutritif, des colonies rondes semblables à une réunion de cristaux en forme de rayons. Ce bacille a été retrouvé en grande quantité dans des cultures du contenu intestinal d'un cobaye adulte, auquel j'avais donné à avaler du vibrion de Massaouah. Le cobaye se portait très bien et fut sacrifié 2 jours après l'absorption des vibrions. Les organes digestifs ont été trouvés intacts à l'autopsie, et leur contenu donna des cultures presque pures du bacille mentionné, que je désignerai sous le nom de *bacille liquéfiant du cobaye*. Le fait que cette bactérie a remplacé le vibrion de Massaouah, qui ne s'est pas du tout développé dans les cultures, ainsi que la circonstance qu'un bacille tout à fait semblable a été retrouvé par moi dans deux cas de guérison du choléra et de diarrhée cholériforme expérimentale chez l'homme, me suggérèrent l'idée de choisir le bacille liquéfiant du cobaye comme moyen d'empêcher le choléra intestinal.

La première expérience, entreprise avec le bacille liquéfiant, était très encourageante. Deux lapins de 4 jours ont avalé une culture (sur gélose à 36° pendant 24 h.) du vibrion de Massaouah, et une de ce bacille. 9 jours après ils avalèrent encore une cul-

ture du Massaouah, cette fois avec les trois microbes favorisants. 4 jours après je leur donnai encore une fois le même mélange. Les deux lapins ont très bien résisté à cette épreuve.

Dans une seconde expérience, les conditions ont été modifiées de telle façon que les lapins (il s'agissait de 3 lapins de 10 jours) ont avalé, dès le début, une culture des trois microbes favorisants, et aussi une culture de Massaouah et du bacille liquéfiant du cobaye. Le surlendemain ils avalèrent encore une culture des microbes favorisants et du bacille liquéfiant. Deux des trois lapins reçurent encore deux fois des cultures de ce dernier, tandis que le troisième lapin en fut privé. Eh bien, celui-là seul prit le choléra, les deux autres résistèrent parfaitement.

Lorsque, dans les expériences ultérieures, j'ai voulu forcer les doses et administrer à mes lapins des quantités exagérées de vibrions, j'ai vu que l'influence empêchante du bacille liquéfiant s'effaçait de plus en plus. Mais, en général, il n'est point contestable que, soumis à l'action de ce bacille, les lapins résistent beaucoup mieux à l'influence pathogène des vibrions.

Une série d'expériences, entreprise avec de jeunes cobayes, m'a appris également que ces animaux résistent mieux au choléra si on leur donne à avaler le bacille liquéfiant. Comme ces recherches sont loin d'être terminées, je me contenterai de communiquer le résultat général de cette série. Sur 19 jeunes cobayes, auxquels j'ai donné à avaler des cultures de Massaouah, associées avec les trois microbes favorisants, 13 sont morts du choléra intestinal et 6 ont résisté (voir chap. VII). La majeure partie de ces animaux ont reçu cette combinaison de quatre microbes à deux reprises, chaque fois une culture entière, sur gélose, de chaque microbe. Sur 14 autres cobayes qui ont été traités de la même façon, mais auxquels j'ai administré en outre, chaque fois, une culture de bacille liquéfiant de cobaye, 5 seulement sont morts de choléra, tandis que 9 ont résisté définitivement. *Ces expériences démontrent clairement le grand rôle que jouent les microbes associés aux vibrions, dans la production du choléra ; elles indiquent aussi l'influence empêchante du bacille liquéfiant du cobaye sur l'activité cholérigène des vibrions.* Mais elles prouvent, en même temps, que le problème n'est pas encore

résolu d'une façon satisfaisante, et qu'il faut tâcher d'obtenir de meilleurs résultats dans la même voie.

Tandis que le bacille liquéfiant de cobaye manifeste une influence empêchante incontestable, un bacille liquéfiant aussi, mais différent du premier, bacille que j'ai retrouvé en quantité dans le rectum d'un des jeunes chiens qui ont résisté au choléra (voir p. 535), ne m'a donné sur des lapins jeunes qu'un résultat négatif. Des trois lapins de sept jours, qui avaient avalé une culture du vibron de Massaouah avec les trois microbes favorisants et le bacille liquéfiant du chien, un est mort en 21 heures, les deux autres en 23 heures, tous trois d'un choléra intestinal des plus typiques. Le bacille du chien a donc exercé dans l'organisme des lapins une action favorisante sur les vibrions, au lieu d'empêcher le choléra.

IX

APPLICATION DES DONNÉES EXPÉRIMENTALES A L'ÉPIDÉMIOLOGIE DU CHOLÉRA.

Tout l'ensemble des données, exposées dans les précédents chapitres, démontre que le vibron cholérique est bien sensible à l'action des microbes qui l'avoisinent. Cette influence de la flore microbienne pourrait être utilisée pour expliquer un grand nombre de faits d'épidémiologie, recueillis surtout par M. de Pettenkofer, et qui semblaient si souvent être en désaccord avec la découverte fondamentale de M. Koch, du bacille-virgule comme agent producteur du choléra.

L'épidémiologie nous apprend que certaines épidémies de choléra se distinguent par leur faible extension : les petits foyers cholériques s'éteignent d'eux-mêmes, sans aucune mesure sanitaire. Comme exemple je puis citer le choléra de Finten et Gonsenheim en 1886. Provoqué par des vibrions cholériques constatés chez des malades, le choléra n'a été reconnu que tout à fait à la fin de l'épidémie. Malgré l'absence de toutes précautions prophylactiques, celle-ci ne s'est pas propagée jusqu'à Mayence, la grande ville voisine, et s'est éteinte d'elle-même. Comme extrême opposé, on peut invoquer le choléra de 1892, qui a débuté dans plusieurs points éloignés entre eux, et s'est distingué par la rapidité de son extension. Pendant qu'il faisai

des ravages autour de la mer Caspienne, le choléra apparaît brusquement dans la banlieue de Paris, sans qu'on puisse établir son origine immédiate.

L'hypothèse de l'influence microbienne pourrait bien expliquer ces faits paradoxaux. Lorsque le vibron cholérique pénètre dans le canal digestif, renfermant des microbes favorisants, la maladie se développe facilement, et donne lieu à une extension épidémique rapide. Lorsque, au contraire, les microbes favorisants sont en petit nombre, ou bien lorsque la flore des organes digestifs est riche en microbes empêchants, le choléra trouve un obstacle plus ou moins infranchissable, et ne donne lieu qu'à des petits foyers.

L'immunité locale passagère ou permanente, ainsi que l'immunité saisonnière, pourraient trouver la même explication. L'immunité de certains endroits, comme Versailles, ne pouvant plus être attribuée à l'impossibilité, pour le vibron cholérique, d'y pénétrer et d'y vivre, pourrait être expliquée par l'absence, dans la flore du canal digestif des habitants, d'une quantité suffisante de microbes favorisants. Le vibron cholérique pénètre bien dans ces localités indemnes, et les cas de choléra importé ne font défaut dans aucune épidémie; mais le microbe spécifique, avalé par des habitants, dont la flore stomacale et intestinale lui est défavorable, ne produit pas le choléra.

Cette immunité locale qui ne peut pas être expliquée, au moins dans le cas que nous avons étudié, par l'absence totale du vibron cholérique, ne peut non plus être attribuée à un état vacciné permanent des habitants.

La présence du vibron cholérique dans les eaux à des époques où il n'y a pas d'épidémie cholérique (comme par exemple sa pullulation dans la Seine au printemps et à l'été de 1893) fait qui paraît si paradoxal au premier abord, peut se concilier également avec l'hypothèse de l'influence microbienne. Les vibrions de la Seine en 1893 n'ont pas provoqué d'épidémie, non pas parce qu'ils n'étaient pas assez virulents (les expériences directes, relatées dans les chapitres II et III, ont prouvé le contraire), mais bien parce que la flore microbienne des habitants était défavorable pour leur manifestation cholérigène.

On ne peut plus discuter sérieusement le rôle de l'eau comme véhicule du microbe cholérique. Dans sa polémique contre cette

théorie, M. de Pettenkofer et son école se rapportaient à des faits où l'extension de l'épidémie ne correspondait pas fidèlement à la distribution de l'eau potable. Les influences microbiennes peuvent expliquer cette contradiction. L'eau contaminée a pu importer des vibrions cholériques, sans que ceux-ci amènent le choléra, par suite de l'obstacle des microbes empêchants. Lorsque la flore des voies digestives est favorable pour le vibron cholérique, l'extension épidémique du fléau est facile ; dans le cas contraire, il ne se produit que des cas isolés. Les influences microbiennes peuvent expliquer également des cas de choléra développés, à la suite de l'absorption de certaine nourriture qui par elle-même ne sert pas de véhicule au vibron cholérique. Ainsi on a observé que des fruits, une bière mauvaise, etc., provoquaient des explosions cholériques.

Je n'invoque que l'influence de la flore des organes digestifs, parce que je ne peux pas chercher le facteur favorisant le choléra dans quelque microbe particulier, exotique et importé avec le vibron. Les expériences où la culture pure de ce vibron a provoqué le vrai choléra, ne permettent pas de penser autrement. Dans une de ses publications, M. Buchner ¹, faisant des réflexions sur le caractère miasmatique du choléra, émet l'hypothèse de quelque microbe particulier, ressemblant à la coccidie malarique, qui jouerait le principale rôle. Dès mes premières recherches de 1892, j'ai dirigé mes observations vers ce point, en tenant compte de ce fait que, lors de la découverte de M. Koch, les coccidies malariques étaient encore peu connues. Mais, malgré l'emploi de toutes les méthodes propres à résoudre ce problème, je ne me suis assuré que de l'absence de tout microbe de ce genre dans le sang, aussi bien que dans les organes (intestin, foie, etc.). D'après la théorie de M. Nencki et de ses élèves, le choléra serait dû à une association du vibron cholérique avec certaines autres bactéries spécifiques, auxquelles ils ont donné le nom de *Bacillus caspicus*. Ils essayent de prouver cette opinion par l'étude de la virulence des mélanges microbiens, injectés aux animaux par la voie péritonéale.

Les mêmes influences qui permettent ou empêchent le développement épidémique du choléra, peuvent agir dans des cas isolés. Dans le premier exemple de choléra expérimental chez

1. *Deutsche Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspflege*. J. 25 ; N 3. 1893.

l'homme, le fait si frappant que la maladie a été provoquée par un vibron ancien, presque dépourvu de toute virulence pour les animaux, chez une personne non sujette à des indigestions, a suggéré l'idée de quelque influence favorable toute particulière. Après avoir constaté que, parmi les microbes favorisant en cultures le vibron cholérique, une des premières places est occupée par des sarcines, j'ai consulté mon livre d'expériences, et j'y ai trouvé l'indication que dans les cultures des premiers vomissements de mon malade, les colonies étaient surtout constituées par une sarcine jaune. Des expériences ultérieures ont démontré l'influence favorable de la sarcine dans le choléra intestinal des jeunes rongeurs.

Dans l'autre exemple que j'ai rapporté de choléra expérimental chez l'homme, c'était encore une culture des moins virulentes, déjà âgée de 11 jours, absorbée par une personne chez laquelle on ne pouvait supposer aucune sensibilité particulière, qui a provoqué la maladie classique.

On a donc le droit de penser, à titre d'hypothèse, que la sensibilité et la réceptivité de l'homme pour le choléra, sont en grande partie influencées par les microbes des voies digestives, favorisant ou empêchant l'action pathogène du vibron spécifique. Cette supposition s'accorde beaucoup mieux avec les faits que l'hypothèse d'une influence intime du tissu de la paroi intestinale, qui permettrait ou empêcherait l'action des toxines cholériques.

Dans le cas de choléra intestinal des jeunes rongeurs, qui est une des bases de la théorie que j'expose, on pourrait attribuer à leur jeune âge la sensibilité pour le vibron cholérique. On sait que beaucoup de microbes sont plus pathogènes pour les jeunes animaux que pour les adultes. Peut-être ce facteur joue-t-il aussi un rôle, mais le fait que les cobayes plus jeunes que les lapins résistent beaucoup mieux au choléra, s'expliquerait plus facilement par l'intervention de la flore microbienne, plus riche chez les jeunes cobayes que chez les jeunes lapins.

La théorie que je cherche à soutenir implique une certaine localisation de la flore microbienne. Autrefois on l'admettait pour le vibron cholérique lui-même, qu'on supposait être une plante exotique, peu capable de vivre dans nos climats. Des faits nombreux ont démontré qu'une pareille hypothèse est

insoutenable. Le vibron cholérique s'adapte bien à des conditions d'existence très différentes de celles du delta du Gange, et peut vivre longtemps dans nos latitudes.

La flore de l'estomac humain est très peu connue ; celle de l'intestin grêle de l'homme l'est encore moins. Il est évident qu'une étude suivie de cette flore est nécessaire pour se faire une idée précise sur les conditions que trouve le vibron cholérique, parvenu dans les voies digestives. Mais le petit nombre de faits, recueillis dans la science, présente déjà un grand intérêt. M. W. de Bary ¹, qui a étudié la flore stomacale de 17 personnes de Strasbourg, a fourni des documents qui prouvent que cette flore est loin d'être monotone. Sur ces 17 cas, la sarcine n'a été retrouvée que dans 3 (18 0/0). Les torulas (formes-levures, ne faisant pas fermenter les sucres) étaient beaucoup plus fréquentes, à peu près dans 76 0/0 des cas. Si, d'une façon absolument problématique, on admettait que, pour que le vibron cholérique provoque le choléra chez l'homme, il faut qu'il soit favorisé par les torulas et les sarcines réunies, des 17 personnes de M. W. de Bary, trois seulement devraient être signalées comme sensibles au choléra.

M. Abelous ² a étudié à Montpellier la flore de son propre estomac, d'une façon systématique et pendant une longue période. Il signale la présence de 16 formes microbiennes, parmi lesquelles les sarcines (bactéries favorable au vibron cholérique) et le bacille pyocyanique (bactérie qui lui est plutôt défavorable). Mais il ne mentionne pas les torulas. Par contre MM. Capitan et Morau ³, n'ont jamais trouvé, chez trente personnes, étudiées sous ce rapport, ni la sarcine ni le bacille pyocyanique. Ils ont le plus souvent obtenu des torulas, dont ils ont isolé deux espèces. Le troisième microbe, retrouvé par eux, était un petit bacille liquéfiant la gélatine et donnant des colonies jaunes.

Dans son mémoire sur les sarcines de l'estomac, qui vient de paraître, M. Oppler ⁴ signale ce fait intéressant que la *sarcina ventriculi* se trouve régulièrement chez des individus atteints de la dilatation bénigne de l'estomac, tandis que dans une série d'autres maladies (gastrite aiguë et chronique, atonie, ulcère

1. *Archiv. f. exper. Pathol.*, V. XX, 1886, p. 243.

2. Recherches sur les microbes de l'estomac, 1889.

3. *C. r. de la Soc. de Biologie*, 1889, p. 25.

4. *Münchener med. Wochenschr.*, 1894, n° 29, p. 570.

rond, etc.), elle ne se rencontre que d'une façon accidentelle. Par contre, dans les dilatations de l'estomac dues au cancer, la *sarcina ventriculi* présente une grande rareté. M. Oppler a isolé de l'estomac cinq espèces de sarcines, dont une, la sarcine jaune orangée, la plus rare de toutes, se distingue par la facilité avec laquelle elle pousse dans des milieux acides. On comprend facilement quelle importance peuvent acquérir tous ces faits pour la question de l'étiologie du choléra.

Dans le matériel stomacal que j'ai étudié, sur dix cas, je n'ai rencontré qu'une seule fois la sarcine en quantité abondante; c'était cette sarcine blanche et visqueuse qui a servi dans mes expériences sur le choléra intestinal des rongeurs. Les torulas étaient plus fréquentes, et j'en ai isolé plusieurs variétés.

En dehors de ces faits, qui démontrent la localisation des microbes de la flore humaine, je pourrais en signaler plusieurs autres. On connaît bien le caractère local des épidémies de la fièvre récurrente. Le spirille d'Obermeyer est une bactérie parasite, très fréquente dans certains pays et absolument inconnue dans d'autres (la France par exemple). On a recueilli d'un autre côté un certain nombre de faits sur la localisation individuelle du pneumocoque. Tandis que la cavité buccale de certaines personnes en renferme des quantités, quelquefois pendant des années, chez d'autres individus ce microbe fait complètement défaut. Dans ses recherches sur le pus bleu, M. Mühsam¹ a constaté que le bacille pyocyanique se trouve comme saprophyte sur la peau de la moitié des individus. On pourrait augmenter le nombre d'exemples analogues.

Les fermentations fournissent d'autres preuves en faveur d'une certaine localisation de la flore microbienne. M. Duclaux m'a communiqué ce fait que certains fromages, comme par exemple les fromages de Brie, préparés d'après le même procédé, mais dans d'autres localités que la Brie, y réussissent moins bien, même quand on s'est servi, comme semence, des cajets de paille provenant de la Brie et renfermant les microbes de cette région. Ces microbes, mis en contact avec la flore du nouvel endroit, étaient envahis par des représentants de cette flore nouvelle. D'un autre côté, dans certaines localités, comme par exemple en Champagne, d'après M. Duclaux, le jus de raisin est envahi dans la grande

1. Cité dans le *Centralb. f. Bakter.*, 1894, p. 316.

majorité des cas par la même espèce de levure. On sait l'application qu'on tente de faire avec des levures de certaine provenance locale pour l'amélioration des vins.

En se plaçant à ce point de vue que dans le choléra, maladie due à l'action spécifique du vibrion de Koch, les microbes favorisants et empêchant des organes digestifs jouent un rôle des plus importants, on pourra expliquer des faits d'épidémiologie qui semblaient être en désaccord avec la théorie du bacille-virgule, et surtout l'influence du temps et des lieux, incontestable dans le développement des épidémies.

X

CONCLUSIONS.

1. L'immunité locale, ce fait solidement établi dans l'épidémiologie du choléra, ne peut être expliquée par des conditions particulières, empêchant la vie du vibrion spécifique. Ce microbe peut se trouver en dehors de l'épidémie cholérique et dans des endroits parfaitement indemnes.

2. Il n'est pas possible d'admettre que l'immunité locale tienne à l'état de vaccination inconsciente et permanente des habitants.

3. Le sang des habitants des localités indemnes ne se distingue par aucune propriété particulière préventive vis-à-vis de l'infection cholérique.

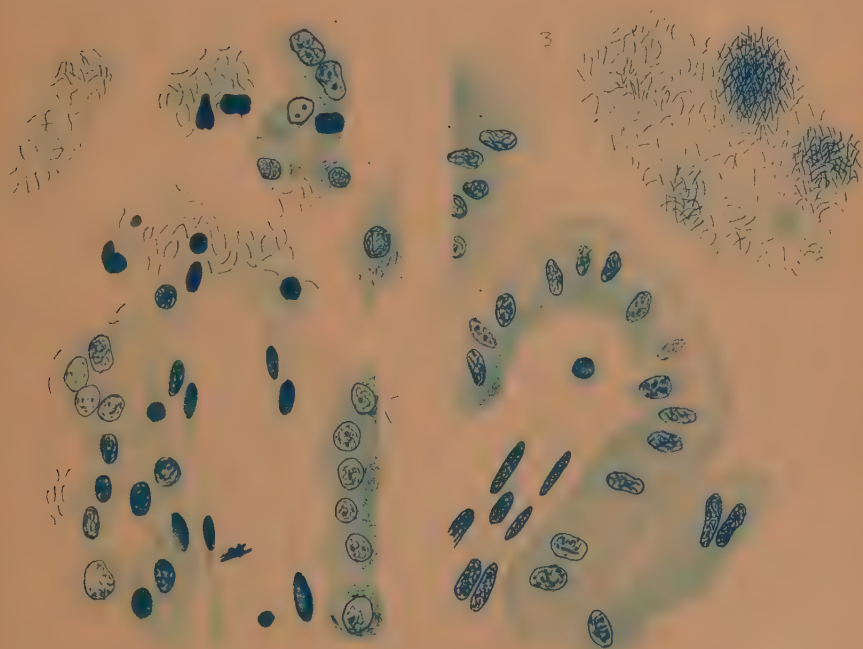
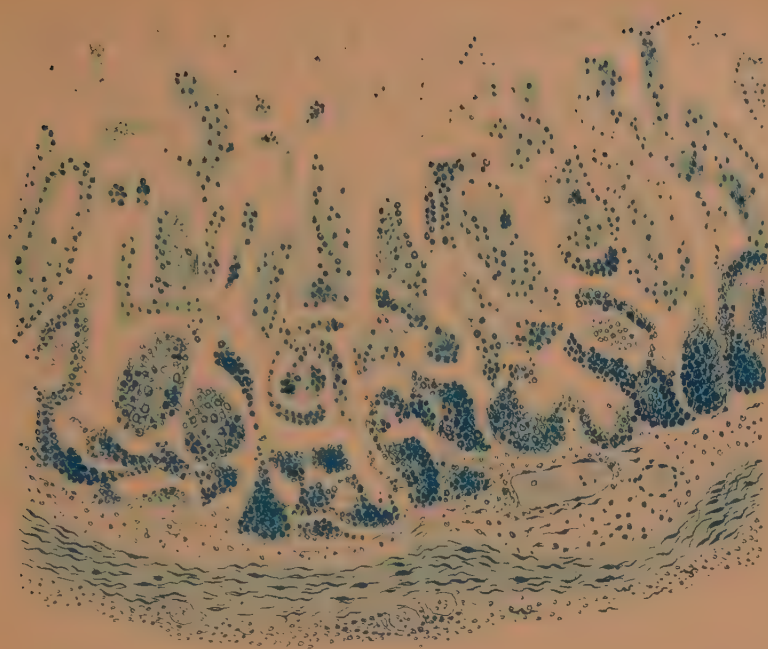
4. L'ingestion de cultures cholériques ne protège pas sûrement contre l'effet pathogène du vibrion de Koch.

5. Le vibrion cholérique développé sur des milieux nutritifs avec d'autres microbes, subit une grande influence de la part de ces derniers.

6. L'immunité des animaux contre le choléra intestinal est en grande partie due à l'influence empêchante de la flore du canal digestif sur le vibrion cholérique.

7. Tant que les jeunes lapins ne se nourrissent que de lait de leur mère, ils manifestent une grande sensibilité pour le vibrion cholérique. Il se développe chez eux un choléra intestinal, analogue à celui de l'homme. Ce choléra est facilité par l'action de certains microbes.

8. Les jeunes cobayes sont moins sensibles à l'ingestion du vibrion cholérique que les jeunes lapins. Aussi le choléra



intestinal des jeunes cobayes est beaucoup moins typique que celui des jeunes lapins.

9. La vaccination des jeunes lapins par les cultures stérilisées ou vivantes du vibrion cholérique ne les protège pas contre le choléra intestinal.

10. La protection des jeunes lapins contre le choléra intestinal par le sérum des animaux vaccinés contre la péritonite cholérique, est quelquefois efficace. Mais cette action est trop inconstante pour qu'on puisse se fier à elle. Le sérum du cheval normal ne peut pas être sûrement utilisé pour protéger les jeunes lapins contre le choléra intestinal.

11. Les tentatives pour empêcher le choléra à l'aide des microbes, ont démontré qu'il existe des bactéries, dont la présence dans les voies digestives gêne l'action pathogène des vibrions. Ces expériences, non achevées, n'ont pas abouti jusqu'à présent à un résultat définitif.

12. Dans l'immunité et la réceptivité de l'homme et des animaux vis-à-vis du choléra intestinal, la flore microbienne du canal digestif joue un rôle important. S'appuyant sur ce fait, on peut facilement concilier la vérité fondamentale que le vibrion de Koch est l'agent spécifique du choléra, avec les données de l'épidémiologie, notamment avec l'influence des lieux et du temps sur la marche des épidémies cholériques.

EXPLICATION DES FIGURES DE LA PLANCHE XI.

Fig. 1. Coupe de l'intestin grêle d'un lapin mort du choléra intestinal en 36 heures.

Fig. 2. Une partie d'une autre coupe du même organe pour montrer les détails.

Fig. 3. Une partie de l'intestin grêle d'un lapin, qui a ingéré le vibrion de Massaouah avec les microbes favorisants, et qui a été sacrifié 16 heures après le début de l'expérience.

UN CAS DE CHOLÉRA VRAI A BACILLE-VIRGULE

DANS LA BANLIEUE PARISIENNE (SAINT-DENIS)

En juillet 1893,

PAR LE D^r NETTER,

Professeur agrégé, médecin des hôpitaux.

(Travail du Laboratoire d'hygiène de la Faculté de Médecine.)

L'épidémie cholérique de 1892 a pris fin avec cette année à Paris et dans la banlieue¹. Les documents de la préfecture de police signalent une atténuation considérable dès le 1^{er} novembre. A partir de ce moment il ne se produisait plus que des cas isolés, et l'épidémie était considérée comme terminée.

Le 28 novembre nous prenions la direction du Service d'isolement au bastion XXXVI, et ce service, destiné non seulement aux cholériques de la capitale, mais encore à ceux de la banlieue, recevait seulement 13 malades dont les selles contenaient le bacille-virgule. Le dernier de ces malades est entré le 14 décembre, et, bien que le service ait été fermé seulement le 20 janvier, il n'y eut aucune admission ultérieure de cholérique.

Pendant l'été de 1893, quelques malades atteints d'accidents cholériformes étaient admis à l'hôpital Necker. Dans aucun de ces cas M. Metchnikoff n'a trouvé de bacille-virgule.

L'épidémie cholérique de 1892 n'a pas eu de retour offensif. Elle a suivi la marche classique du choléra à Paris. *A l'encontre de beaucoup de localités, Paris n'a presque jamais été visité par une épidémie deux ans de suite.*

Le choléra de 1865 a seul fait une sérieuse exception à cette règle, car la reprise du choléra en 1833 après l'épidémie de 1832 a été relativement insignifiante, et les quelques cas observés en 1853 avant l'épidémie de 1854 n'ont fait leur première apparition que le 7 novembre, et ne sauraient constituer d'épidémie distincte.

1. L'épidémie cholérique de 1892 dans le département de la Seine, Paris, 1893.

Voici du reste un tableau qui donne en A le chiffre total des décès, et en B le nombre de morts pour 100,000 habitants aux diverses apparitions du choléra.

		A.	B
1832	26 mars au 30 septembre.....	18 402 }	2342 }
1833	janvier à décembre.....	505 }	64 }
1849	9 mars au 31 octobre.....	19 615 }	1861 }
1853-54	7 novembre à fin décembre.....	9 096	774
1865	1 ^{er} septembre 1865, fin décembre...	6 347 }	354 }
1866	juillet à décembre.....	5 218 }	289 }
1873	29 août au 30 novembre.....	855	46
1884	3 novembre au 31 décembre.....	986	44
1892	mai à décembre ¹	894	36

Mais si Paris et sa banlieue n'ont pas eu d'épidémie en 1893, il ne s'ensuit pas qu'il n'ait pu y avoir cette année de cas isolé de choléra.

Nous avons été à même d'en étudier un dans lequel nous avons pu isoler le bacille-virgule : *cas de choléra à la fois sporadique puisqu'il a été isolé, asiatique puisque les selles renfermaient le vibrion du choléra indien.*

Cette constatation a un intérêt assez considérable au point de vue scientifique, et voici pourquoi. MM. Blachstein, Sanarelli et Metchnikoff ont montré que l'eau de Seine en 1893 a renfermé, du mois d'avril au mois d'août, des vibrions dont quelques-uns avaient tous les caractères du vibrion cholérique.

Pareille constatation n'avait encore été faite que dans des localités où existaient des cas de choléra. Les vibrions de Sanarelli faisaient exception si, comme il était autorisé à le dire, « pendant tout l'été de cette année Paris et sa banlieue ont été absolument exempts de choléra ². »

Le fait que nous allons rapporter prouve que cette proposition n'est pas tout à fait exacte, et que les constatations de Sanarelli peuvent être rapprochées de celles des autres auteurs qui ont trouvé le vibrion cholérique dans les eaux, et particulièrement de Dunbar ³.

Voici dans quelles conditions ont été faites nos recherches. Notre excellent confrère le Dr Dupuy, chargé du service d'isolement de l'hôpital de Saint-Denis, a bien voulu nous confier

1. Jusqu'en 1884 et inclusivement, nous avons pris les chiffres du rapport de M. Bertillon qui diffèrent un peu de ceux du mémoire de la préfecture de police.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, octobre 1893.

3. Versuche zur Nachweis von Choleravibrionen in Flusswasser. *Arb. a. d. K. Gesundh.*

l'examen bactériologique des selles de ses malades, en 1893 comme en 1892.

Pendant cette dernière année, le nombre des cholériques à Saint-Denis a été très considérable, et nous n'avons pas examiné moins de 91 cas, sur lesquels nous avons constaté 73 fois le bacille-virgule, qui a été isolé 66 fois sur les plaques de gélatine¹.

En 1893, du 19 juin au 7 juillet, 11 malades ont été envoyés dans le service d'isolement. Tous ont guéri : un de ces malades avait dans ses selles le bacille-virgule.

Il convient de remarquer que certainement en 1893 le bacille-virgule n'a pas été moins bien cherché qu'en 1892. On pourrait plutôt soutenir le contraire, car en 1892 je n'avais recours le plus souvent qu'aux plaques de gélatine, et je n'ai utilisé parallèlement la méthode de Schottelius que dans un quart des cas.

En 1893, au contraire, j'ai toujours, en même temps que les plaques de gélatine, employé la méthode d'enrichissement par culture à 37° dans une solution de peptone et de sel à 1 0/0.

Je suis donc en droit de dire que *le bacille-virgule en 1893 à Saint-Denis a été extrêmement rare, et il est fort probable que mon observation est unique.*

Ce bacille-virgule a été retiré des selles du nommé Guilloux, soumises à mon examen le 7 juillet, et je n'insisterai pas outre mesure sur sa description, *puisque le vibron présentait toutes les conditions requises par Koch* : forme incurvée, mobilité, aspect brillant, granuleux, bords un peu irréguliers des colonies, liquéfaction absolument classique de la gélatine, réaction indolnitreuse après 24 heures, beau voile à la surface des cultures dans l'eau peptonisée, développement classique sur la gélose, la pomme de terre, le sérum gélatinisé. L'inoculation intrapéritonéale de petites quantités d'une culture fraîche amenait la mort du cobaye avec les symptômes et les lésions classiques.

Comme le plus grand nombre des vibrions isolés par nous en 1892, non seulement à Saint-Denis, mais dans le reste de la banlieue, à Paris et dans divers points de la France, le vibron est fortement incurvé, gros et court, et muni d'un seul cil. Il coagule le lait au bout de 2 à 3 jours².

1. Voir les documents insérés à la fin de ce travail.

2. NETTER, Rech. bactér. sur les cas de choléra ou de diarrhée cholériforme observés dans la banlieue de Paris : *Soc. méd. des hôpitaux*, 15 juillet 1892.

Seule son action sur le pigeon ne répond pas absolument à la description classique. Cet animal succombait à une inoculation intra-musculaire. Mais pareille action pathogène pour le pigeon n'est pas incompatible avec le vibrion cholérique. Elle a été signalée par divers auteurs, et elle existait chez quelques vibrions isolés par nous en 1892.

Nous avons résumé aussi brièvement que possible les observations des onze malades qui ont fait l'objet de nos recherches en 1893. L'histoire de ces malades a été rédigée plus complètement par M. Siou interne de M. le D. Dupuy, mais les proportions de cet article ne permettent pas de la reproduire intégralement.

CHOLÉRA VRAI, AVEC BACILLES-VIRGULES DANS LES SELLES.

I. — GUILLOUX, Joseph, 44 ans, terrassier à Saint-Denis depuis le 30 juin, entre à l'hôpital le 7 juillet. A travaillé le 4 juillet au canal de Saint-Denis, où il a bu beaucoup d'eau. Diarrhée abondante le 5, qui le 6 augmente et s'accompagne de crampes, puis de vomissements.

Tableau classique du choléra : facies, refroidissement, aphonie, douleur épigastrique, crampes, diarrhée, vomissements, anurie, pouls petit. Les jours suivants cyanose. État grave pendant 9 jours. Apparition le 17 juillet de fièvre allant jusqu'à 40° (18 juillet), de délire, d'éruption papuleuse (choléra typhoïde). Parotidite qui ne suppure pas. La diarrhée n'a pris fin que le 31 juillet. Exeat le 17 août.

Examen des selles le 7 juillet. Sur les lamelles, nombre assez grand de bacilles incurvés ayant l'apparence de bacilles-virgules. Isolement facile sur plaque de gélatine. Développement très marqué d'un voile assez cohérent, blanc grisâtre, sans rides, à la surface de l'eau peptonée à 37°.

DIARRHÉES CHOLÉRIFORMES DANS LESQUELLES ON NE TROUVE PAS DE VIBRIONS CHOLÉRIQUES.

II. — FLINT, Joseph, 52 ans, journalier, entre le 19 juin : a bu beaucoup d'eau, mais de l'eau du puits artésien ou de la pompe de l'usine. Début le 16 juin par diarrhée, — vomissements le 19, facies grippé, langue refroidie, crampes, selles riziformes, diminution de l'élasticité de la peau, affaiblissement de la voix, diminution de l'urine. Amélioration très marquée dès le lendemain, selles bilieuses plus nombreuses, — peut être considéré comme guéri le 22, sort le 29 juin.

Les selles envoyées le 19 juin ont bien l'aspect riziforme.

Le microscope ne montre pas de formes incurvées. Les cultures ne font pas voir de bacilles-virgules. Sur les plaques de gélatine, colonies de *bacterium coli* et bâtonnets liquéfiant.

III. — BAILLY, 22 ans, mégissier, entre le 23 juin ; habite une maison insalubre dans une cité où ont été signalés, en 1892, 3 cas de choléra, et travaille dans une usine sur le bord de la Seine, où il y a eu quelques cas de choléra en 1892.

Excès de boisson le 16 et le 17. Dans la nuit du 22 au 23, diarrhée, vomissements, crampes.

Le 23, face grippée, soif vive, douleurs abdominales, évacuations bilieuses. Température 38°4 et 38°7. Amélioration dès le lendemain. La diarrhée a pris fin le 25 : sort guéri le 1^{er} juillet.

Les selles envoyées le 24 juin sont incolores, fétides, l'examen microscopique ne montre ni microbes incurvés ni spirilles. Pas de colonies de bacille-virgule.

IV. — LEBON, 27 ans, terrassier, entre le 25 juin : boit beaucoup d'eau d'une fontaine entre Pierrefitte et Gonesse¹. Pris le 25, à 5 heures du matin, de coliques, borborygmes, crampes : extrémités légèrement cyanosées, pas de refroidissement, légère douleur abdominale. Amélioration très marquée dans la nuit. Pas de selles les 27 et 28. Sort guéri le 9 juillet. Selles envoyées le 25. — Liquide peu coloré avec nombreux flocons transparents. Pas de bacilles-virgules à l'examen microscopique ni aux cultures.

V. — BARON, Jules, blanchisseur, entre le 26 juin : mal à l'aise depuis une quinzaine de jours. — Début de la diarrhée le 20 juin. Vomissements le 22, crampes le 24, diminution de l'urine. Voix un peu cassée. Amélioration dès le lendemain. — Exeat le 5 juillet,

Selles examinées le 27 juin. Apparence bilieuse. Examen microscopique et culture démontrent l'absence de bacille-virgule.

VI. — PROVOST, Joseph, mégissier, 19 ans, entre le 1^{er} juillet. Est employé dans la même usine que le n° III ; diarrhée le 23 et le 24 juin. Vomissements le 30, crampes le 1^{er} juillet. Température élevée, 40°7, douleur épigastrique. Amélioration très marquée le 3, considéré comme guéri le 5. Exeat le 8 juillet. Pas de bacille-virgule dans les selles.

VII. — GIBERGHE, tailleur de pierres, 46 ans, entre le 27 juin. Il y a eu l'an dernier un cas de choléra dans la maison. Début le 25 par de la diarrhée : le 27, crampes, vomissements, aphonie, oligurie. Amélioration le 28. Sort le 5. Pas de bacilles-virgules dans les selles examinées le 1^{er} juillet.

VIII. — Femme FRÉMONT, entre le 5 juillet. Boit beaucoup d'eau d'un puits suspect. Un enfant de son patron a eu de la diarrhée et des vomissements. Début du 1^{er} au 2 juillet, malaise, vomissements et crampes. Du 2 au 3 diarrhée très fréquente, facies grippé. Guérie le 9.

Selle examinée le 5. Liquide jaune clair, dépôt pulvérulent coloré en noir par le bismuth. Culture pure de *bacterium coli*.

Nouvel examen le 9. Mêmes résultats.

IX. — RÉMOND, charretier, 26 ans, entre le 6 juillet. Début le 5, diarrhée, vomissements, crampes. A l'entrée, facies grippé, anurie, voix très cassée,

1. Il y a eu plusieurs cas de choléra à Gonesse en 1892. V. PROUST, NETTER et THOINOT. Le choléra dans le département de Seine-et-Oise en 1892. *Revue d'hygiène*, juillet 1893.

gargouillement abdominal, pas de refroidissement. Amélioration du 6 au 7. Sort le 9 juillet.

Selle liquide jaune examinée le 6 juillet. Dépôt pulvérulent blanc, pas de bacille-virgule.

X. — LAURENT, 17 ans, admise au pavillon d'isolement le 6 juillet, diarrhée, vomissements. Le 8 juillet on rectifie le diagnostic. Il s'agit d'une fièvre typhoïde.

Selle jaune avec dépôt pulvérulent, pas de vibrions.

XI. — DEVIENNE, Gabrielle, 7 ans, entrée le 7 juillet. Il y a huit jours, le grand-père, venu de l'île Saint-Denis, où il y a eu des cas de cholérine, a eu la cholérine dans la maison de sa petite-fille. Début le 7 juillet au matin, diarrhée, vomissements, crampes, yeux très excavés, diminution de la tonicité de la peau. Pas de refroidissement. Ventre empâté, gargouillements. Bonne journée le 9. Sort guérie le 15 juillet.

Les selles examinées le 19 sont liquides, jaunes, avec dépôt pulvérulent. Elles ne contiennent pas de bacilles-virgules.

On voit que chez ces malades le tableau clinique était celui du choléra ou de la cholérine. Dans presque toutes les observations, il s'agit d'individus ayant bu beaucoup d'eau et principalement d'eau de Seine. Plusieurs fois il existe des détails étiologiques qui semblent établir des présomptions sérieuses en faveur du choléra vrai.

Les malades III et VI étaient occupés dans la même usine. Il y a eu coexistence de cas de diarrhée avec vomissements dans la même maison pour les observations VIII et XI.

On a noté, en 1892, des cas de choléra dans la maison ou dans la cité habitées par les malades III et VII. On est tenté d'invoquer une importation de la maladie pour le XI.

On pourrait supposer que dans quelques-uns de ces cas le bacille-virgule a pu être présent et échapper à nos recherches. Nous reconnaissons que la chose est d'autant plus possible que, sauf chez un seul malade, les selles n'ont été examinées qu'une fois. Nous rappellerons cependant qu'en 1892, alors que notre technique était certainement moins précise, les résultats de nos examens ont été bien différents, et qu'à cette époque, comme en 1893, nous ne faisons que pour un jour seulement l'examen des selles des malades.

Au surplus cette objection n'enlèverait rien à la démonstration que nous voulions fournir, à savoir qu'il y a eu en 1893 dans la banlieue parisienne un cas de choléra avec bacilles-virgules.

CONCLUSIONS.

1. Nous avons fait, en juillet 1893, l'examen bactériologique des selles d'un sujet atteint de choléra. Cet homme n'avait pas quitté la banlieue de Paris et buvait de l'eau de Seine qui, à ce moment, renfermait des bacilles-virgules, comme l'ont démontré Blachstein et Sanarelli.

2. Le rapprochement de ces deux faits témoigne en faveur d'une relation entre l'existence du choléra et la présence de bacilles-virgules dans l'eau.

3. S'il y a eu un cas de choléra dans la banlieue parisienne en 1893, il n'y a pas eu d'épidémie cholérique dans tout le bassin de la Seine, bien que quantité de personnes aient bu cette eau contaminée. La présence de bacilles-virgules dans l'eau ingérée ne suffit donc pas à provoquer l'apparition d'une épidémie.

4. Le cas de choléra observé à Saint-Denis en 1893, démontre la persistance de la vie et de la virulence des bacilles-virgules introduits dans la Seine en 1892. Le bacille reste donc actif dans l'eau plus d'un an après sa sortie du corps. Des examens nombreux et répétés de l'eau et des selles de sujets malades permettront sans doute d'établir combien peut durer cette vitalité. Grâce à ces examens on pourra se prononcer sur la question si controversée de la reviviscence du choléra en Europe à longues échéances, reviviscence qui ne semblerait pas très probable, si l'on tient compte des enseignements fournis par les anciennes épidémies.

POST-SCRIPTUM.

Au moment où nous corrigeons ces épreuves (30 juillet 1894), nous venons d'avoir la preuve que l'eau de Seine dans la banlieue parisienne recèle encore des bacilles-virgules susceptibles de donner naissance au choléra.

Nous avons en effet constaté le bacille-virgule dans les déjections d'un malade de Saint-Denis, qui nous ont été envoyées le 24 juillet par M. le Dr Dupuy. Nous avons retrouvé des bacilles-virgules dans des échantillons d'eau qui nous ont été envoyés le 27 juillet : eau du puits que buvait ce malade, eau du Croult, ruisseau qui servait à son industrie de blanchisseur, eau de

Seine, eau du canal de Saint-Denis. On ne trouve pas de vibrions dans les eaux d'Oise et de puits artésien qui sont fournies aux parties périphérique et centrale de Saint-Denis.

Ces recherches ont besoin d'être poursuivies et complétées, ce que nous comptons faire avec le concours de M. Mosny. Nous nous réservons de les exposer d'une façon plus détaillée. Il nous a paru impossible de passer sous silence les points déjà acquis.

Depuis le commencement de 1894 et avant le cas du 24 juillet, nous avons examiné 4 fois des déjections de sujets signalés comme cholériques à Paris (14 février, 31 mai, 9 juillet). Dans aucun de ces cas nous n'avons trouvé de bacilles-virgules.

EXAMENS BACTÉRIOLOGIQUES DES SELLES ENVOYÉES DE SAINT-DENIS EN 1892¹.

A. — Chez 66 malades les bacilles-virgules ont été isolés par la culture.

1 cas le	1 ^{er} juin	Peletier.
1 —	8 —	Spinglar.
2 —	13 —	Madelena, Levillat.
1 —	1 ^{er} juillet	Bastard.
2 —	2 —	Zirwes, Allard.
3 —	11 —	Joan, Guaydon, Blain.
1 —	13 —	Blé.
8 —	15 —	Martin, Videlo, Dehault, Bombarde, Gueguen, femme Guéguen, femme Brumagne, Demesse.
7 —	18 —	Martellier, femme Féderi, fils Brumagne, Le Couvrard, Chauve, Colmar, Martin.
9 —	20 —	Clarot, Payen, enfant Labbé, enfant Joan, enfant Martin, Saint, femme Autier, femme Le Calvez, Labbé père.
1 —	23 —	Callot.
3 —	24 —	Courtois, Combet, Rovera.
2 —	27 —	Robin, Scheffer.
2 —	29 —	Bulte, mari et femme.
2 —	31 —	Epoux Martin.
1 —	2 août	Legoff.
3 —	4 —	Femme Fourier, Mackereel, Stier.
2 —	8 —	Femme Lemorvan, Bayen.
1 —	9 —	Olten.
3 —	11 —	Caquelin, Pitou, Hermans.
1 —	13 —	Vinkler.

1. L'histoire de ces malades est résumée dans l'intéressant mémoire de M. le Dr DUPUY : Contribution à l'étude étiologique du choléra de 1892 dans la banlieue parisienne. Paris 1894.

2 cas le 22	août	Chevalier, Sabatier.
8 — 31	—	Chevance, Balché, Franehl, Senécal, Jacquemiss, Fervaille, Wilmouth, Gorlet.

Chez deux de ces sujets le bacille-virgule ne répondait pas tout à fait au type habituel en 1892. Chez la femme Allard (2 juillet) le bacille était plus long, plus ou moins infléchi, il liquéfiait plus lentement la gélatine, il ressemblait davantage au type mince, classique de Calcutta conservé dans le laboratoire. Chez Chauve (18 juillet) le bacille virgule liquéfiait très peu la gélatine.

B. — Chez 7 malades, les bacilles-virgules, très nets sur les préparations, n'ont pas été cultivés.

2 cas le 11	juillet	Jonot, Griswar.
1 — 18	—	Pauchet.
1 — 27	—	Femme Bouraget.
2 — 13	août	Courson, Valette.
1 — 22	—	Robert.

Dans 3 de ces cas l'addition d'acide sulfurique pur aux selles faisait apparaître une belle couleur rouge.

C. — Dans 18 cas l'examen microscopique et les cultures n'ont pas montré de bacilles-virgules.

1 cas le 1 ^{er}	juin	Femme Hervé.
1 — 17	—	Enfant Suzaune.
1 — 6	juillet	Feriot.
1 — 11	—	Gestin.
1 — 15	—	Garnier.
2 — 20	—	Linteperg, H ubert.
2 — 25	—	Femme Lemorvan, Salloudre.
1 — 27	—	Steiner.
1 — 13	août	Femme Martellier.
1 — 20	—	Platel.
6 — 1 ^{er}	septembre	Femme Testu, Louvel, Joseph Claudin, Lessel, Lequez.

Dans les 2 premiers cas l'autopsie a montré qu'il ne s'agissait pas de choléra.

Chez la femme Lemorvan (25 juillet) on a trouvé ultérieurement des bacilles-virgules (8 août). Nous ne pouvons dire s'il y a eu infection hospitalière, bien que l'observation porte à le croire (Mém. de M. DUBOIS. Obs. LXXIX, p. 63). La plupart des malades de cette catégorie ont guéri rapidement.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DIPHTÉRIE AVIAIRE EN TUNISIE

PAR

D^r A. LOIR,

Directeur de l'Institut bactériologique
de la Régence de Tunis.

E. DUCLOUX,

Vétérinaire militaire au dépôt de remonte
de Tunis.

Au moment de l'occupation française en 1882, les Arabes Tunisiens élevaient leurs volailles avec l'indifférence qu'ils apportent à toute chose, et laissaient à leurs animaux une liberté complète, autour de leur habitation ou de leur tente. Depuis notre arrivée dans le pays, de nombreux colons ont voulu s'occuper de l'élevage des volailles; les uns, suivant la mode arabe, les laissent libres dans les environs de la ferme, mais cherchent à améliorer les races indigènes; les autres aménagent de véritables volières et se rapprochent plus de nos procédés d'élevage européen.

Dans les deux cas, après une courte période de succès, la basse-cour se dépeuplant, la majeure partie des colons durent abandonner l'élevage des volailles. Actuellement, il semble que la cause de dépeuplement augmente d'année en année: les Arabes ne produisent presque plus de volailles, quoique les races indigènes, plus rustiques, soient moins sensibles à l'épidémie. Ils perdent, lorsque la mortalité se met chez eux, la moitié, les deux tiers de l'effectif de leur basse-cour. Les colons qui ont essayé d'élever des races perfectionnées en faisant venir à grands frais des bêtes de France, voient certaines années tout disparaître. Aussi l'élevage de la volaille sur une grande échelle est-il abandonné dans la Régence.

Il en résulte que ce qui se vendait 25 et 30 centimes il y a dix ans, vaut maintenant jusqu'à 2 francs. La Tunisie produit à peine pour sa consommation, et ne fournit rien sur les 14 millions de kilogrammes d'œufs qui entrent chaque année à Marseille, venant d'Italie, de Turquie, d'Égypte, de la Tripolitaine, du Maroc, etc...

Trouver un remède qui permettrait d'avoir des basses-cours dans chaque ferme, serait donc un véritable service à rendre à la Tunisie, non seulement au point de vue de l'augmentation des ressources alimentaires du pays, mais au point de vue aussi du commerce d'exportation de la colonie.

Causes de la mortalité. — Cette mortalité exagérée est due à une maladie qui sévit constamment en Tunisie, mais qui, à certaines époques de l'année, en automne par exemple, fait des ravages encore plus considérables.

Dès l'installation du laboratoire de bactériologie de la Régence, pendant les derniers mois de l'année 1893, notre attention a été appelée sur cette affection.

Nous savons aujourd'hui que cette maladie n'est autre que la diphtérie des volailles; nous avons fait l'étude de son microbe; frappés de la fréquence des cas d'angines à fausses membranes chez des hommes placés dans les milieux où il y avait une épizootie sur les poules, nous avons fait l'étude bactériologique de plusieurs cas de ces angines et avons trouvé : une fois le bacille classique de Klebs-Löffler, d'autres fois, des bacilles pseudo-diphtéritiques, des streptocoques, et enfin, une fois, une culture pure du bacille de la diphtérie aviaire chez un enfant de 7 ans, vivant dans une ferme infectée, où les poules venaient d'être décimées par la maladie. Enfin, poursuivant l'étude de notre microbe, nous sommes arrivés à l'atténuer par l'action de la chaleur, et nous avons pu inoculer dans la pratique un certain nombre de poules, qui, placées dans des milieux où règne la maladie, résistent parfaitement.

Tous les animaux de basse-cour paient leur tribut à la maladie; il nous est venu des poules, des canards, des moineaux, des pigeons et des dindons, atteints de cette affection, de toutes les parties de la Régence de Tunis.

Tous ces animaux, sans distinction d'âge, se montrent sensibles à l'inoculation des matières virulentes, ou de cultures du microbe dont nous parlerons tout à l'heure.

Ce microbe est inoculable aux lapins, qui succombent en quelques jours si la dose est suffisante, qu'ils soient inoculés sous la peau, dans les veines, dans la trachée, dans le tube digestif, dans le péritoine; pourtant l'inoculation intra-veineuse est la méthode de choix. Nous n'avons jamais pu tuer ni le

cobaye, ni les animaux de l'espèce bovine, même à la suite d'injections intra-veineuses à doses massives.

La maladie se présente sous deux formes, l'une très grave, dans laquelle la mort arrive rapidement, tandis que chez d'autres animaux elle évolue plus lentement, et dure plusieurs jours.

Ces différences dans la durée d'incubation et la gravité de la maladie se présentent dans une même basse-cour, dans la même épizootie, et dans tous ces cas nous avons trouvé le même microbe, ce qui prouve bien que nous avons affaire à la même affection.

Au début de nos recherches, la maladie était appelée tantôt diphtérie, tantôt choléra des poules, tantôt variole. Dans tous les cas examinés dans les diverses parties de la Tunisie, nous avons toujours trouvé la même affection, si bien que nous en sommes à douter, après huit mois de recherches, de l'existence du choléra des poules dans la Régence, où nous n'avons jamais pu le rencontrer.

A côté de la diphtérie, et concurremment avec elle, nous avons quelquefois vu, chez les poules atteintes de la soi-disant variole, des pustules boutonneuses que nous n'avons jamais pu reproduire chez nos animaux d'expériences, pustules que l'on rencontre quelquefois chez des bêtes en apparence bien portantes. Nous pensons que cette affection n'a rien à voir avec la mortalité actuelle, et nous étudierons cette maladie dans un autre travail.

Nos recherches eurent pour point de départ une épidémie de soi-disant choléra des poules que l'un de nous fut chargé par la direction de l'Agriculture d'aller étudier à Bédja, au commencement de décembre 1893; une poule malade, rapportée au laboratoire, nous permit de commencer l'étude que nous exposons dans ce travail. Quelques jours après, deux dindes apportées au laboratoire par M. le vétérinaire en 1^{er} Henry, présentèrent les mêmes lésions et nous donnèrent le même microbe. M. le docteur Bertholon nous remit peu après deux jeunes canards morts de la même affection que les animaux précédents; la basse-cour du commandant Catroux, contrôleur civil de Tunis, nous offrit de nouveaux sujets d'études, et depuis que nous nous occupons de cette maladie, nous recevons souvent des cadavres dans lesquels nous avons toujours retrouvé le même microbe.

Un questionnaire a été lancé dans la Régence de Tunis par une commission nommée par la section des Sciences physiques de l'Institut de Carthage pour faire une enquête au sujet de cette maladie; les réponses faites à cette commission dont nous faisons partie avec M. Henry, vétérinaire en 1^{er} au 4^e chasseurs d'Afrique, nous ont fourni beaucoup de documents intéressants sur le sujet.

Contagion. — Tous les tissus d'une bête malade sont virulents; les déjections, les sécrétions, sont également virulentes et servent de moyen de contagion. Par cohabitation directe, les poules prennent très facilement la maladie, et meurent alors même que la poule malade avec laquelle elles ont été mises en contact revient à la santé. Ainsi, une poule placée dans une cage avec la poule rapportée de Béjà, dont nous avons déjà parlé comme étant le point de départ de notre étude, prend la diphtérie et succombe au bout de 20 jours de cohabitation, tandis que la poule venant de Béjà survit. Cette expérience a été répétée une dizaine de fois en mettant des poules saines en contact avec des bêtes inoculées sous la peau, dans les veines, ou dans la trachée, et tous ces animaux sont toujours morts de diphtérie. Nous avons déjà dit que nous avons rencontré des petits oiseaux, moineaux, etc., atteints de la maladie; ils doivent en être les grands propagateurs; un autre mode de dissémination, ce sont les marchés; il nous a été donné de voir une basse-cour, indemne jusque-là, recevoir 3 poules achetées au marché: l'une de ces poules meurt de la diphtérie quelques jours après son achat; cette mort fut le début de la maladie qui décima tout le poulailler. Il fut impossible d'y reprendre l'élevage, jusqu'au jour où on eût procédé à une rigoureuse désinfection, et mis dans la basse-cour des animaux vaccinés.

Cette observation montre bien la nécessité d'avoir un petit lazaret où l'on mettra en observation pendant plusieurs jours, avant de les introduire dans la basse-cour, les bêtes que l'on vient d'acheter. Un autre mode de dissémination de la maladie qui est peu connu, semble-t-il, est l'indifférence mise à se débarrasser des cadavres, qu'on laisse sur place, ou qu'on jette sur le fumier, à la portée du reste de la basse-cour.

Symptômes, marche, lésions. — La maladie se caractérise par la formation d'un exsudat fibrineux jaune grisâtre plus ou moins

épais, qui apparaît sur les muqueuses nasales, bucco-pharyngiennes, et qui arrive à obstruer complètement les premières voies respiratoires.

Les oiseaux atteints sont tristes, abattus, ont le dos voussé, la tête et le cou rapprochés du thorax, les plumes hérissées, la respiration gênée et plus rapide : la déglutition devient impossible, une diarrhée jaunâtre, verdâtre se manifeste toujours ; elle est plus ou moins abondante selon la gravité de l'affection. La température s'élève de plusieurs degrés, et l'appétit a complètement disparu ; par le bec entr'ouvert on voit s'échapper parfois une bave grisâtre, visqueuse, très virulente. Les muqueuses buccale et pharyngienne sont congestionnées, enflammées, et présentent en beaucoup d'endroits des boursofflures d'un rouge foncé qui se recouvrent de concrétions fibrineuses blanchâtres riches en microbes. La crête devient brunâtre et foncée, surtout lorsque l'affection se termine par la mort. Des fausses membranes plus ou moins épaisses siègent dans le poumon, les sacs aériens et l'intestin. Le foie, la rate sont congestionnés, enflammés, hypertrophiés et contiennent toujours le bacille diphtéritique en très grande quantité et à l'état de pureté. Il y a quelquefois de la néphrite. Le sang coagulé au contact de l'air, renferme l'agent virulent en moins grande abondance que le foie et la rate.

Expériences de transmission de la maladie sur la poule. — Le 20 janvier, 2 coqs reçoivent sous la peau 1 c. c. d'une culture pure faite dans le bouillon. Le 28, ces animaux ont perdu leur gaieté et leur appétit, les plumes sont hérissées, la respiration est difficile, rapide ; sur la muqueuse pharyngienne on voit de nombreux pointillés rougeâtres et un exsudat fibrineux ; il y a de la diarrhée. Tous ces symptômes augmentent en gravité jusqu'au 4 février. A partir de cette date, l'état général s'améliore, et le 12 février on constate que la muqueuse buccale s'est débarrassée presque complètement de ses fausses membranes. Le 20 février les animaux ont recouvré leur état de santé.

Le 25 janvier une poule reçoit sous la peau 3 c. c. d'une culture pure de diphtérie. Le 30, elle présente tous les symptômes généraux et locaux que nous venons d'énumérer au sujet des coqs inoculés le 20. Le 6 février nous la trouvons morte.

Autopsie : Fausses membranes très épaisses en grande quantité dans le larynx et le pharynx qui sont congestionnés, inflam-

més et recouverts de plaques hémorragiques. La rate est hypertrophiée et d'un rouge foncé. — Le foie a augmenté de volume, la muqueuse intestinale est recouverte en beaucoup d'endroits de fausses membranes. Abondance de microbes diphtériques constatée dans tous les organes, le sang, le foie, la rate, les reins, etc.... Des cultures sont faites sur gélose, sur gélatine et sur pomme de terre avec du sang, du foie et de la rate. Au bout de 48 heures, nous constatons que sur tous ces milieux il s'est développé une culture abondante, uniforme dans son aspect, dans sa couleur. L'examen de ces cultures nous montre le même bacille que nous avons vu dans le sang, le foie et la rate.

Le 4 mai, 15 poules sont inoculées sous la peau avec 1 c. c. de culture de diphtérie aviaire; 7 d'entre elles meurent les 12, 13 et 14 mai de diphtérie; les 8 autres, après avoir été malades pendant plusieurs jours, reviennent à la santé.

Le 20 avril, 3 poules reçoivent dans la trachée 5 c. c. de culture de diphtérie aviaire; elles meurent le 26 avril. Beaucoup de congestion pulmonaire, rate grosse; beaucoup de fausses membranes dans la gorge.

Le 30 mars, 2 poules reçoivent, dans la veine de l'aile, 1 c. c. de culture, et 2 autres 2 c. c. Les premières meurent le 4 avril et les 2 dernières le 2 avril. Toujours rien au point d'inoculation, beaucoup de fausses membranes dans la gorge.

3 pigeons sont inoculés le 3 avril avec 1 c. c. dans les veines, avec une culture de diphtérie aviaire. Ils meurent au bout de 3 et 4 jours.

Microbe, virulence. — Dans tous les tissus et liquides de l'organisme d'un animal qui vient de succomber à la maladie, et pendant la maladie, dans le sang, dans les fausses membranes ou dans les mucosités filantes des voies aériennes des animaux malades, on trouve à l'état de pureté un microbe arrondi à ses extrémités, mobile. Il se cultive très bien sur la gélatine où il donne une trainée blanc-crème, peu large. Sur gélose, à la température ordinaire ou à l'étuve à 39°, la culture, moins apparente, est d'un blanc grisâtre. Sur pomme de terre il donne très rapidement, à la température ordinaire, une belle culture abondante d'un blanc jaunâtre. Dans le bouillon, de 35° à 40°, le microbe se multiplie avec une grande rapidité et trouble le liquide. Au bout de quelques jours, la partie supérieure de cette

culture s'éclaircit, tandis que dans la partie inférieure on observe un dépôt blanchâtre, visqueux, adhérent aux parois du verre. En piqûre, dans la gélatine et la gélose, il forme une trainée blanchâtre peu abondante. Il se développe également sur le blanc d'œuf stérilisé et dans l'humeur aqueuse du bœuf. Il se cultive aussi bien et aussi rapidement en présence de l'oxygène qu'à l'abri de l'air; il est donc à volonté aérobie et anaérobie. Il se colore facilement par les méthodes ordinaires, mais non par la méthode de Gram. Il meurt après avoir été soumis à la température de 60° pendant 5 minutes il résiste à la dessiccation.

Caractères différentiels du microbe aviaire avec le bacille de Klebs. — Il est tout à fait différent du bacille de la diphtérie humaine classique de Klebs-Löffler. Semé sur la gélatine, la gélose, et maintenu à une température de 16-17°, il donne en 48 heures une culture; il pousse très bien sur la pomme de terre en produisant une culture abondante, épaisse et très apparente. Il tue constamment le pigeon, la poule, le lapin, à la suite de l'injection intra-veineuse ou intra-trachéale. Sous la peau, la mortalité n'est pas constante, même avec 3 c. c. de culture; mais on obtient ordinairement la mort de la moitié des bêtes inoculées.

Au point d'inoculation il n'y a jamais de réaction locale.

Atténuation, vaccination. — Les volailles qui ont résisté à une première atteinte de la maladie spontanée ou à une inoculation de matières virulentes, et après guérison complète, sont à l'abri de toutes les tentatives de contagion ou d'inoculation, même avec des doses massives du microbe virulent par voie intraveineuse. La maladie ne récidive donc pas. En possession de cette donnée, nous avons cherché à obtenir l'atténuation du microbe pour en faire un vaccin. Nous avons obtenu cette atténuation par un chauffage à 55° pendant une demi-heure. Une culture ainsi traitée et inoculée sous la peau, à la dose de 1 c. c., ne tue pas les poules, leur donne une légère élévation de température et les met dans un état d'immunité relatif, que nous complétons en inoculant comme deuxième vaccin un centimètre cube d'une culture vieille de deux mois : les animaux ont alors une immunité absolue.

Le 15 mai, sur 8 poules qui ont résisté aux différentes inoculations déjà signalées, quatre reçoivent dans les veines 2 c. c. d'une culture virulente de diphtérie, et quatre autres

reçoivent sous la peau 4 c. c. de la même culture. Cette culture est en même temps inoculée à deux témoins, un dans les veines, et l'autre sous la peau. Ces 2 témoins meurent de diphtérie en 4 et 6 jours. Une des 4 poules inoculées dans les veines meurt de diphtérie 8 jours après l'inoculation; les autres résistent.

Le 31 mai, 12 poules reçoivent sous la peau 1 c. c. de culture de diphtérie aviaire portée à 55° pendant une 1/2 heure; elles résistent. Le 11 juin, injection sous la peau de ces 12 poules, de 1 c. c. de culture virulente de deux mois; ces animaux ne présentent aucune réaction.

Le 28 juin, injection sous la peau de 6 de ces poules de 2 c. c. de culture virulente; 3 témoins sont inoculés le même jour avec la même quantité, 2 meurent 12 jours après, le 3^e après avoir été très malade revient à la santé. Les 6 vaccinées résistent. Les 6 autres vaccinées sont placées dans une basse-cour infectée où elles sont encore en bonne santé.

Recherche du bacille de la diphtérie aviaire sur l'homme. — La fréquence que nous avons constatée en Tunisie, des cas d'angine diphtérique sur les hommes qui vivent en rapport avec des animaux de basse-cour infectés par la diphtérie aviaire, nous a fait rechercher si on pouvait incriminer le bacille aviaire, et s'il était possible de le retrouver dans des fausses membranes de diphtérie chez l'homme.

Nous devons, pour ces recherches, remercier M. le médecin principal Richard et M. le Dr Bertholon qui ont mis à notre disposition plusieurs de leurs malades. Nous avons ainsi pu faire l'examen bactériologique de six angines, les unes graves ayant nécessité la trachéotomie, les autres bénignes. Dans chaque cas nous prenions, par grattage avec le fil de platine, un petit fragment de fausse membrane: nous examinions au microscope et nous semions sur gélose.

A côté des microbes que l'on trouve d'ordinaire dans les fausses membranes, bacille de Klebs-Löffler, bacille pseudo-diphtérique, streptocoque, etc., nous avons trouvé une fois à l'état de pureté un bacille en tout semblable à celui de la diphtérie aviaire, et nous nous croyons autorisés à identifier ces deux microbes. Voici le résultat de nos recherches sur ce point particulier :

1^{er} cas. Angine bénigne dans laquelle nous trouvons un streptocoque;

2^e CAS. Angine grave ayant nécessité la trachéotomie, dans les fausses membranes, nous trouvons encore un streptocoque ;

3^e CAS. Angine assez grave, diagnostiquée diphtérie, dans laquelle nous trouvons un bacille différent de celui de la diphtérie humaine ordinaire ainsi que de celui de la diphtérie aviaire.

4^e CAS. Angine dans les fausses membranes de laquelle nous trouvons un staphylocoque.

5^e CAS. Angine ayant laissé des paralysies du voile du palais et de la main : contenait le bacille classique de la diphtérie humaine.

6^e CAS. Un enfant de 7 ans, habitant les environs de Tunis, dans une ferme où sévit la diphtérie aviaire depuis 6 mois, présente une angine grave à fausses membranes peu épaisses et peu adhérentes, dans lesquelles nous retrouvons, par la culture, un bacille offrant tous les caractères de celui de la diphtérie aviaire.

Ce bacille, inoculé sous la peau d'une poule, entraîne la mort de cet animal en 5 jours, et l'autopsie révèle les lésions typiques de la diphtérie aviaire, après examen microscopique et culture sur gélatine, gélose et pomme de terre.

CONCLUSIONS.

Il existe en Tunisie une maladie très répandue, à laquelle on donne souvent des noms différents, tantôt diphtérie, tantôt choléra des poules, tantôt variole, qui empêche l'élevage de la volaille sur une grande échelle. Cette maladie est la diphtérie aviaire, qui détruit les deux tiers et même la totalité des basses-cours sur lesquelles elle s'abat et n'épargne en général aucune bête de race perfectionnée.

Cette diphtérie aviaire est due à un bacille tout à fait différent de celui de la diphtérie humaine classique.

Ce micro-bacille se cultive facilement dans tous les milieux ; il tue poules, pigeons, dindons, canards, moineaux, lapins, etc. Les cobayes et les bovidés résistent à son inoculation.

Les poules qui, après avoir été malades à la suite de l'inoculation, reviennent à la santé, ont l'immunité contre une seconde atteinte de la maladie.

On peut, en chauffant pendant une demi-heure ce bacille à une température de 55°, l'atténuer de façon à le rendre inoffensif pour les poules à l'égard desquelles il joue le rôle d'un véritable vaccin.

A côté des microbes qui sont la cause ordinaire des angines diphtéritiques humaines, on trouve chez l'homme des cas d'angines à fausses membranes produits par le bacille de la diphtérie aviaire.

STATISTIQUE DE L'INSTITUT PASTEUR

AVRIL, MAI, JUIN 1894

	A			B			C		
Morsures à la tête { simples	»	»	»	»	1	2	»	1	3
et à la figure { multiples	»	»	»	»	1	»	»	2	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation.	»	»	»	2	»	»	3	»	»
Morsures aux mains { simples	»	1	4	»	15	28	»	11	24
multiples	»	3	»	»	13	»	»	13	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	3	»	»	13	»	»	12	»	»
Pas de cautérisation.	1	»	»	15	»	»	12	»	»
Morsures aux mem- { simples	»	»	1	»	6	19	»	11	27
bres et au tronc { multiples	»	1	»	»	13	»	»	16	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	7	»	»	16	»	»
Pas de cautérisation.	1	»	»	12	»	»	11	»	»
Habits déchirés.	»	»	»	10	»	»	21	»	»
Morsures à nu.	1	»	»	9	»	»	6	»	»
Morsures multiples en divers points du corps.	»	»	»	»	1	1	»	1	1
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	»	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation.	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Habits déchirés.	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Morsures à nu	»	»	»	1	»	»	1	»	»
<hr/>									
Totaux. { Français et Algériens . .	5	5	43	50	49	55			
Etrangers	»	»	7	»	6	»			
	A		B		C				
<hr/>									
TOTAL GÉNÉRAL				110					

Les animaux mordeurs ont été : chats, 7 fois; chiens, 103 fois.

Le Gérant : G. MASSON.